T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAKIR TAYİNİ İÇİN YENİ BİR FLOROJENİK MOLEKÜLER PROB GELİŞTİRİLMESİ

Muhammed Emin AKBULUT

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa ÖZYÜREK

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

İSTANBUL-2019

Bu çalışma 31.10.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından
Kimya Anabilim Dalı, Analitik Kimya Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr.Mustafa ÖZYÜREK
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr.Kevser Sözgen BAŞKAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr.Kubilay GÜÇLÜ
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Fen EdebiyatFakültesi

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa'nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin ..... numaralı projesi ile desteklenmiştir.
Bu tez, ... numaralı ..... projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın seçiminde, hazırlanmasında ve araştırmaların yürütülmesinde her türlü bilgi ve önerileriyle bana yol gösteren kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa ÖZYÜREK'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Kendilerini bilimsel ve akademik kimlikleriyle örnek aldığım; çalışmalarımın yürütülmesinde gerekli olan işlemlerin yapılması ile ilgili olarak tecrübelerinden yararlandığım ve aralarında bulunmaktan mutluluk duyduğum değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Kubilay GÜÇLÜ ve Sayın Prof. Dr. Mehmet ALTUN'a;

Çalışmalarım boyunca bana yardımcı olan değerli dostum Öğr. Gör. Emin Ahmet YEŞİL'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince maddi ve manevi desteklerini benden hiç esirgemeyen kıymetli büyüklerime ve aileme de şükranlarımı sunarım.

Ekim 2019 Muhammed Emin AKBULUT

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**
TABLO LİSTESİ ..... **ix**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **x**
ÖZET ..... **xi**
SUMMARY ..... **xiii**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **2**
2.1. LÜMİNESANS 2
2.2. FLORESAN PROBLAR 4
2.2.1: Uyarılmış Molekülün Floresans ve Diğer Durulma Prosesleri. 6
2.3. BAKIR 7
2.3.1. Tarihi 7
2.3.2. Bakırın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 7
2.3.3. Bakırın Sağlık Üzerine Etkisi 8
2.4. BAKIRIN TAYİN EDİLMESİ 9
2.5. YAKIN KIZILÖTESİ ESASLI FLORESAN PROBLAR 9
2.6. BAKIRA SEÇİCİ YAKIN İNFRARED (NIR) FLORESAN PROBLAR 11
3. MALZEME VE YÖNTEM **13**
3.1. KULLANILAN CİHAZLAR 13
3.2. KİMYASALLAR 13
3.3. BAKIR İÇİN GELİŞTİRİLEN YENİ PROBUN GENEL MOLEKÜL YAPISI, SENTEZİ VE MEKANİZMASI 13
3.3.1. NIR-BH Genel Molekül Yapısı 13
3.3.2. NIR-BH Sentezlenmesi 14
3.3.3. NIR-BH Probunun Cu^{2+} Katyonuyla Meydana Gelen Reaksiyon Mekanizması 15
3.4. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI 16
3.4.1. $CuCl_2$ Çözeltisinin Hazırlanması 16

3.4.2. NIR-BH Çözeltisinin Hazırlanması....17
3.4.3. Diğer Metal Çözeltilerinin Hazırlanması....17
3.5. UYGULANAN YÖNTEMLER....17
3.5.1. NIR-BH Molekülünün Yapısının Aydınlatılmasında Kullanılan Yöntemler....17
3.5.2. Geliştirilen Florometrik Yöntem....17
3.5.3. ICP-MS Referans Yöntem....17
4. BULGULAR....18
4.1. NIR-BH'İN YAPISININ KARAKTERİZASYONU....18
4.1.1. HRMS Spektrumu....18
4.1.2. ^{1}H-NMR Spektrumları....19
4.2. NIR-BH PROBU İLE FLOROMETRİK BAKIR(II) TAYİNİ....24
4.2.2. pH Etkisi....26
4.2.3. Metal İyonları etkisi İnterferans Etki....26
4.2.4. İnkübasyon Süresi....27
4.2.5. Sıcaklık Etkisi....29
4.3. BAZI SU ÖRNEKLERİNDE BAKIR TAYİNİNİN FLOROMETRİK YÖNTEM VE REFERANS YÖNTEM İLE YAPILMASI....29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ....31
KAYNAKLAR....35
ÖZGEÇMİŞ....39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Işığın maddeyle etkileşiminin şematik gösterimi. 3

Şekil 2.2: Floresan probların çalışma mekanizması. 5

Şekil 2.3: Floresan sensör olarak kullanılan bazı moleküller. 5

Şekil 2.4: Uyarılmış molekülün olası durulma prosesleri. 7

Şekil 3.1: Tez kapsamında geliştirilen florojenik NIR-BH probunun sentez prosedürü. 14

Şekil 3.2: Cindric ve arkadaşlarının çalışmasında benzohidrazit türevi ligandın kullanılmasıyla elde edilen Cu^{2+} metal kompleksi. 15

Şekil 3.3: Tez çalışması kapsamında sentezlenen NIR-BH molekülünün üzerindeki florofor ve ligand yapılar. 15

Şekil 3.4: NIR-BH ile Cu^{2+} katyonları arasında gerçekleşen kompleks oluşum mekanizması. 16

Şekil 4.1: NIR-BH molekülünün HRMS spektrumu. 18

Şekil 4.2: NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu. 19

Şekil 4.3: NIR-BH ve bakır arasındaki kompleksleşme oranına göre floresans intensite değişim grafiği (λ_{eks}=680 nm; λ_{em}=750 nm). 25

Şekil 4.4: Cu^{2+}'nin florometrik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrisi. 25

Şekil 4.5: NIR-BH+Cu^{2+} çözeltisinin intensite değerlerinin (λ_{em}=750 nm) pH'ya bağlı olarak değişimi. 26

Şekil 4.6: λ_{em}=750 nm'de çeşitli metallere (10^{-5} M) karşı probun verdiği intensite değerleri (İnterferans; 1: Cu^{2+}, 2: Zn^{2+}, 3: Ni^{2+}, 4: Mn^{2+}, 5: Co^{2+}, 6: Fe^{2+}, 7: Na^{+}, 8: K^{+}, 9: Cd^{2+}, 10: Pb^{2+}) (Çalışma Prosedürü: 0,5 ml NIR-BH (10^{-5} M) + 0,25 ml katyon bileşikleri (10^{-5} M) + 2,25 ml EtOH V_T: 3 ml 27

Şekil 4.7: NIR-BH probunun tek başına ve Cu^{2+} katkılı intensite değerlerinin (λ_{em}=750 nm) inkübasyon süresine bağlı olarak değişimi (30 dakika boyunca). 28

Şekil 4.8: NIR-BH probunun tek başına ve Cu^{2+} katkılı intensite değerlerinin (λ_{em}=750 nm) inkübasyon süresine bağlı olarak değişimi (Günlerarası). 28

Şekil 4.9: 37 ºC'de 30 dakika boyunca bekletilmiş NIR-BH probunun ve Cu^{2+} çözeltilerinin intensite değerleri (Çözeltilerin 1. ölçümü yapılmış, 37 ºC'de 30 dakika boyunca bekletilmiş, sonrasında aynı çözeltilerle 2. ölçüm alınmıştır).....29

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Lüminesans türleri. 2

Tablo 2.2: Bazı floresan problar ve uygulama alanları [20] 6

Tablo 2.3: WHO içme sularındaki bakırın sınır değerleri. 9

Tablo 4.1: Bakırın konsantrasyon (c) - intensite (I) değerleri (λ_{eks}=680 nm; λ_{em}=750 nm) ve doğru denklemi. 24

Tablo 4.2: NIR esaslı florometrik yöntem ve ICP-MS yöntemi ile bazı su örneklerinin Cu^{2+} içerikleri. 29

Tablo 4.3: Gerçek su numunelerine Cu^{2+} katkıları ile elde edilen sonuçlar (N=3). 30

Tablo 5.1: Literatürde yer alan Cu^{2+} tayininde kullanılan bazı probların LOD değerleri 33

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
ε	: Molar Absorptivite
I	: İntensite
c	: Konsantrasyon
M	: Molarite
λ_{ex}	: Eksitasyon Dalga Boyu
λ_{em}	: Emisyon Dalga Boyu
R(r)	: Lineer Korelasyon Katsayısı

Kısaltmalar	Açıklama
AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
HRMS	: Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometresi
LOD	: Tespit Sınırı
LOQ	: Tayin Sınırı
ppm	: Milyonda Bir Birim
Ref	: Referans
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NIR	: Yakın İnfrared
OLED	: Organik Işık Yayan Diyot
HPLC	: Yüksek Basınçlı Likit Kromatografisi
ICP-MS	: İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektrometresi
UV-Vis	: Ultraviyole - Görünür bölge
IR-775	:[2-[2-kloro-3-[2-(1,3-dihidro-1,3,3-trimetil-2H-indol-2-iliden)-ethiliden]-1-siklohegzen-1-il]-etenil]-1,3,3-trimetil-3H-indolyum iyodit]

ÖZET

BAKIR TAYİNİ İÇİN YENİ BİR FLOROJENİK MOLEKÜLER PROB GELİŞTİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed Emin AKBULUT

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Mustafa ÖZYÜREK

Bakır birçok canlı organizma için esansiyel bir elementtir. Bakıra bağlı enzimler önemli biyolojik süreçleri oluşturmaktadır. Tüm bu önemli işlevsel durumlara rağmen bakırın aşırısı Alzheimer, Wilson, böbrek yetmezliği gibi hastalıklara neden olmaktadır. Bu nedenle bakırın doğrudan tayini için kolay uygulanabilen, seçiciliği ve duyarlılığı yüksek yöntemler gereklidir. Son zamanlarda florojenik problar yüksek seçimlilikleri ve düşük dedeksiyon limitleri gibi önemli özellikleri sebebiyle bakır tayininde tercih sebebi olmaktadır. Tez kapsamında geliştirilen NIR-BH probunun eksitasyonu 675 nm olup emisyonu 750 nm dalgaboyu olarak saptanmıştır. NIR-BH probun bakır ile artan konsantrasyonlu kompleksleşmelerinde floresansın azaldığı tespit edilmiştir. Bakırın bu değişen konsantrasyon miktarlarından kaynaklı intensite değerlerinin farkı kullanılarak içme suyu, sanayi atık suyu gibi gerçek örneklerin bakır konsantrasyon değerleri elde edilmiştir. Bakır konsantrasyonu (0,33-1,20 µM) ile intensite farkının arasında doğrusal bir ilişki vardır (r=0,998). Prob ile bakır tayini seçimli olarak yapılabilmektedir. Probun LOD değeri 0,026 µM ile yüksek duyarlılığa sahip olduğu hesaplanmıştır. Bakırın tayininde seçicilik, duyarlılık, hız gibi üstünlükler sayesinde bazı su örneklerine uygulanmış ve bakırın tayini başarılı bir şekilde tespit edilmiştir. Analize ait sonuçlar, Türk Standardları Enstitüsü (TS 266), Dünya Sağlık Örgütü, Avrupa Birliği ve Çevre Koruma Ajansı mevzuatlarında izin verilen bakır konsantrasyonları ile karşılaştırıldı (İzin verilen üst sınır: TS 266:1.5 ppm, WHO:2 ppm, EC:2

ppm, EPA:1,4 ppm). Analiz sonuçlarına göre içme sularında mevzuatlarda belirtilen değerlerin üstünde bir değer gözlemlenmemiştir. Aynı zamanda yeni sentezlenmiş olan prob ile geliştirilen bu yeni yöntemin analitiksel doğruluğu ICP-MS ile karşılaştırılarak validasyon işlemi başarıyla uygulanmıştır.
Ekim 2019, 53 sayfa.

Anahtar kelimeler: Bakır, Floresans, Yakın İnfrared Prob, Florometrik Yöntem, Su Örnekleri

SUMMARY

DEVELOPMENT OF A NOVEL FLOROGENIC MOLECULAR PROBE FOR THE DETECTION OF COPPER

M.Sc. THESIS

Muhammed Emin AKBULUT

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Mustafa ÖZYÜREK

Copper is an essential element for many living organisms. Copper-bound enzymes form important biological processes. Despite all these important functional conditions, the excess of copper causes diseases such as Alzheimer's, Wilson's and kidney failure. For this reason, easy to apply, high selectivity and high sensitivity methods are required for direct determination of copper. Recently, fluorogenic probes are preferred in copper determination due to their high selectivity and low detection limits. The excitation of the NIR-BH probe developed within the scope of the thesis is 675 nm and its emission is determined as 750 nm wavelength. It was found that the fluorescence of NIR-BH probe complexes increased with increasing concentration. Copper concentration values of real samples such as drinking water, industrial wastewater were obtained by using the difference of intensity values due to these varying concentrations of copper. There is a linear relationship between copper concentration (0,33-1,20 μM) and intensity difference (r = 0,998). Determination of copper with probe can be done selectively. The probe's LOD value was calculated to have a high sensitivity with 0,026 μM. In the determination of copper, it has been applied to some water samples thanks to its advantages such as selectivity, sensitivity and speed and the determination of copper has been determined successfully. The results of the analysis were compared with the permissible

concentrations of copper in Turkish Standards Institute (TS 266), World Health Organization, European Union and Environmental Protection Agency legislation (Upper limit: TS 266: 1.5 ppm, WHO: 2 ppm, EC: 2 ppm, EPA: 1.4 ppm). According to the results of the analysis, no value above the values stated in the legislation was observed in drinking water. At the same time, the analytical accuracy of this new method developed by the newly synthesized probe was compared with ICP-MS and validation process was applied successfully.

October 2019, 53 pages.

Keywords: Copper, Fluorescence, Near Infrared Probe, Fluorometric Method, Water Samples

1. GİRİŞ

Bakır, yaklaşık on bin yılı aşkın bir süredir insanoğlu tarafından kullanılmaktadır. M.Ö. 2600 ile 2200 yıllarında bir mısır bitkisinde yaraların sterilizasyonuna ve suyun arıtılması işlemlerinde bakırdan faydalanıldığı tespit edilmiştir. Üstelik Hipokrat, ülser tedavisi için bakırı tavsiye etmiştir. Antibiyotikten önceki yüzyıllarda (1800-1900) birtakım cilt hastalıkları, verem ve bel soğukluğu tedavisinde bakırdan istifade edilmiştir [1]. Bakır organizmada birçok önemli fizyolojik süreçlerde hayati önem taşımaktadır [2]. Buna rağmen organizmaya bakır alımında da bir sınır bulunmaktadır. Aksi halde bakırın aşırısı, reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkmasına neden olup hücredeki fizyolojik süreçleri olumsuz etkileyebilmektedir [3]. Bunun sonucu olarak da Wilson, Parkinson, Menkes gibi birçok ciddi hastalıklara neden olabilmektedir [4]. Bu nedenle bakırın tayin edilmesi önemli bir konu haline gelmiştir.

Bakırın çeşitli numunelerdeki dedeksiyonu için birtakım teknikler geliştirilmiştir [5]. Bu teknikler arasında AAS, ICP-MS en yaygın olanlarıdır [6]. Fakat HPLC gibi başka tekniklerle bir araya getirilmedikçe, ICP-MS bakırı diğer türlerinden ayıramaz [7]. Bu nedenle bakır tayini için organik floresan problar sentezlenmiştir [8]. Aynı zamanda florometrik dedeksiyon, sağladığı yüksek hassasiyet, gerçek zamanlı görüntüleme ve yüksek duyarlılık gibi özellikleri ile daha avantajlı konumdadır [9,10].

Tez kapsamında geliştirilen yeni florojenik moleküler prob ve yeni tayin yönteminde ölçüm işleminin gerçekleştirildiği dalgaboyunun NIR bölgede sadece proba özgü olması, AAS ve ICP-MS gibi yöntemlere göre ucuz ve kolay uygulanabilir olması probun ve yöntemin avantajlarındandır. Sonuç itibariyle, tez kapsamında sentezlenmiş olan yeni florojenik moleküler prob ve yeni tayin yöntemi tıp bilimcileri, gıda bilimcileri, çevre bilimcileri için maliyet, zaman ve enerji konusunda tasarruf sağlayacaktır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. LÜMİNESANS

Elektronik olarak uyarılmış fotonların ultraviyole ve görünür bölgedeki emisyonuna lüminesans adı verilir. Lüminesans kelimesi latinceden lümen kelimesine karşılık gelmektedir. Yani ışık anlamına gelen bu kelime, tarihçi ve fizik bilimcisi Eilhardt Wiedemann tarafından ilk defa 1888 yılında tanımlanmıştır. Lüminesansın farklı türleri ve bu türlere karşılık gelen uyarılma durumları Tablo 2-1'de gösterilmiştir [11].

Tablo 2.1: Lüminesans türleri.

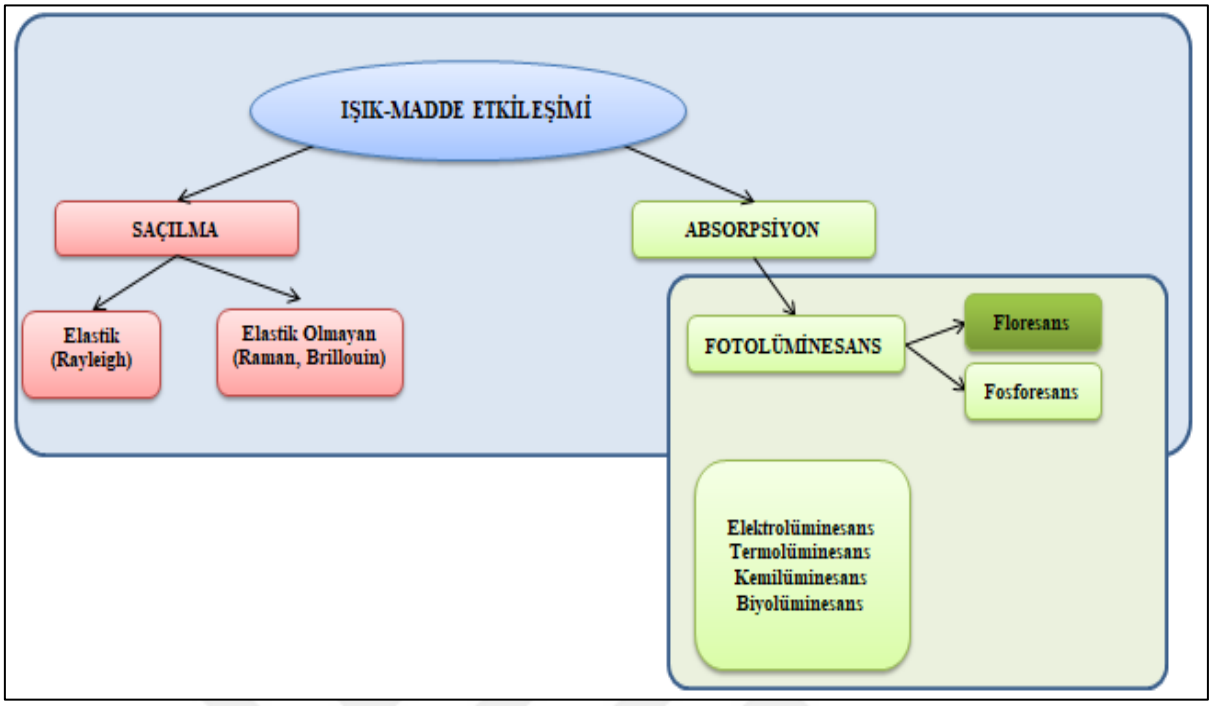
TÜRÜ	UYARILMA TÜRÜ
Fotolüminesans	Işığın absorpsiyonu
Radyolüminesans	İyonize ışıma
Katodlüminesans	Katod ışını
Elektrolüminesans	Elektrik alan
Termolüminesans	Başlangıçta depo edilmiş enerjinin ısıtılması
Kemilüminesans	Kimyasal prosesler
Biyolüminesans	Biyokimyasal prosesler
Tribolüminesans	Sürtünme ve elektrostatik kuvvetler
Sonolüminesans	Ultrason

Lüminesans özellikteki bazı bileşikler:

Organik bileşikler: Aromatik hidrokarbonlar (naftalen, antresen, piren vb.), floresein, kumarinler, rodaminler, amino asitler (triptofan, fenilalanin) vb.

Anorganik bileşikler: Uranil iyonu (UO^{2+}), lantanit iyonlar (Eu^{3+} , Tb^{3+}), kristaller (ZnS, CdS, ZnSe, GaS).

Organometalik bileşikler: Rutenyum kullanılan kompleksler $Ru(biPy)_3$, lantanit iyonu ile oluşturulmuş kompleksler, şelatlayıcı ajanlarla oluşturulan kompleksler.



Şekil 2.1: Işığın maddeyle etkileşiminin şematik gösterimi.

Floresans ve fosforesans, lüminesansın çeşitlerindendir. Uyarılmada fotonların absorpsiyonunu, absorpsiyon yapan türlerin uyarılmış hallerini oluşturur. Fotonların emisyonu, uyarılmış halden temel hale geçişi esnasında olur. Bu olaya fotolüminesans (floresans, fosforesans, kemilüminesans, gecikmeli floresans) denir. Bu durum yalnızca madde ile ışığın etkileşimi neticesinde meydana gelir. Biyolüminesansa örnek, organizmalardan emisyon ışığı yayılması verilebilir. Ateşböcekleri, denizanaları gibi canlı organizmalar kimyasal reaksiyonlar neticesinde emisyon ışığı yayarlar [12]. Genellikle derin deniz organizmaları sahip oldukları floresans özelliklerini avını çekmek, iletişim kurmak ve savunma mekanizması gibi durumlar için kullanır [13].

Denizanasının biyolojik işlevi olan biyolüminesansını gözlemlediğimiz floresans görüntüleri, bizi canlının devamlı bir floresansa sahip olduğu gibi bir hataya düşürmektedir. Fakat denizanaları, savunma ya da eş bulmak amaçlı floresan ışıklarını kullanmaktadırlar. Diğer canlılarda da, bir iletişim şekli oluşturabilecek kompleks ve hızla değişen biyolüminesans modelleri izlenebilir. Bir kalamar çeşidi olan dev kalamarın, hedeflediği avını sersemletmek için biyolüminesans ışıklarını kullandıkları görülmüştür [14].

Lüminesans türleri biyolojik yapılarla sınırlı değildir; aynı zamanda ani bir şekilde diğer doğal nesneler ve sistemlerde oluşabilirler. Bunlardan bir tanesi, bir dış etkinin

uygulanmasına tepki olarak, kristal yapısındaki değişimler sebebiyle belirli katıların ışık saçma kapasitesidir, bu hal mekanolüminesans ismini alır. Kuvars yüzeyinin çizilmesi, kaya yüzeyinin bozuk kısmında parlaklık oluşmasına sebep olur [15]. Benzer şekilde, beyaz kristalli şeker gibi olan bilindik malzemelerin ezilmesi, lüminesansın yayılıp, sönümlenmesine sebep olmaktadır [16]. Bu durumda, bağlar parçalanmış ve enerji kısmen ışık olarak saçılmıştır. Kimyasal bağların, birtakım katıların lüminesans özelliklerinde önemli bir yer tutması, kristallerin kristal kafeslerde belirli bölgelerde olduğu ve bağların oluşturulduğu kristalizasyon işlemleri sırasında fotonların eşit olarak üretilebileceği gerçeğiyle örneklendirilebilinmektedir. Lüminesansın bu biçimine kristallüminesans denir.

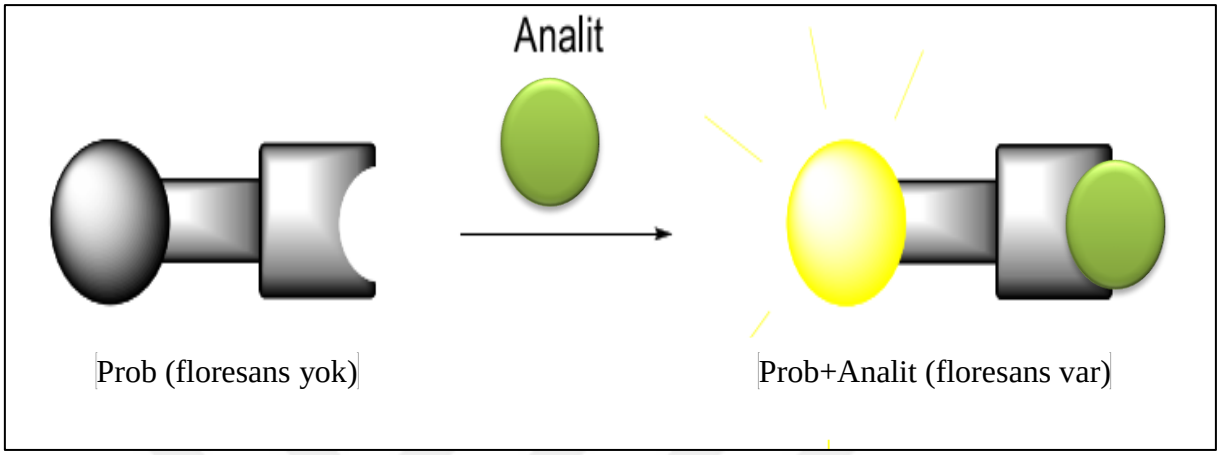
Fosforesans türleri genellikle uzun ömürlü floresans olarak ifade edilir. Bu tanım bir bakıma doğrudur, çünkü floresans türlere yakın yaşam sürelerine sahip olan, kısa zincirli fosfor türleri (sülfür, çinko gibi) içermektedir. Buna ilaveten, fosforesansta, uyarılan türler, ara sistem geçişi vasıtasıyla sistemler arası geçişe neden olur. Bu nedenle fosforesans, spin çokluğundaki singletten triplet hâle geçişi gerektirir. Floresansta ise bu multiplet hâl korunur. Uyarılmış triplet hâlden temel hâle geçiş spin yasaklıdır ve bu nedenle floresanstan çok daha yavaş meydana gelir. Bu sebeple, birçok fosforlu tür, ışığını uzunca bir süre yayar. En iyi açıklayıcı örnek olarak, kol saatlerimizdeki kadranlardır [17].

2.2. FLORESAN PROBLAR

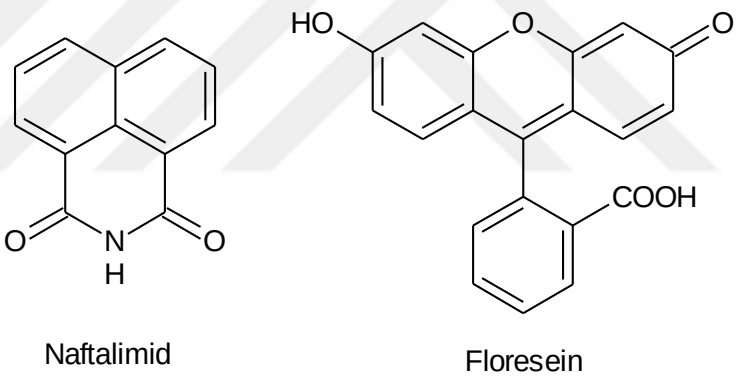
Floresans, üstün özelliklere sahip olması sebebiyle optik formdaki moleküler sensörler için kabul edilmiş en uygun sinyalizasyon mekanizması olarak literatürde yer almaktadır. Floresan probların en önemli özelliği duyarlıklarının çok yüksek olmasıdır. Bunun gerekçesi eksitasyon ve emisyon için eşit olmayan dalga boyları üreten Stokes kaymasıdır. Bu şekliyle örneklemin analizinde, çok az ya da yaklaşık olarak sıfır girişim ile arka plan sinyali oluşmaktadır [18].

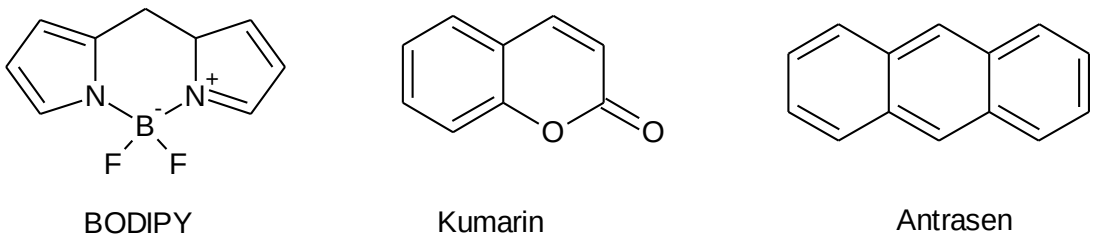
Floresan sinyalleri, pikomolar derişimlerde dahi örneklemleri analizleyebilirken kromojen özellikli problar, mikromolar düzeylere kadar küçük derişimleri analiz edebilmektedirler. Bir diğer önemli konu da Stokes kaymasıdır. Birtakım şartlarda arka plan sinyalini minimize etmek için tek başına yeterli olamamaktadır. Örnek olarak, biyolojik örneklemler 600 nm dalgaboyuna kadar otofloresan sinyallerine sahiptir. Elektromanyetik spektrumda yer almakta olan daha uzun dalga boylarında emisyon/absorbsiyon özellik taşıyan problar, genellikle bu

girişimden etkilenmezler. Biyolojik çalışmalar için uygun olan floresan sensörler, terapötik pencere ismi verilen 600-900 nm aralığında en uygun dalga boyu aralığına sahip olmaları gerekmektedir [19].



Şekil 2.2: Floresan probların çalışma mekanizması.





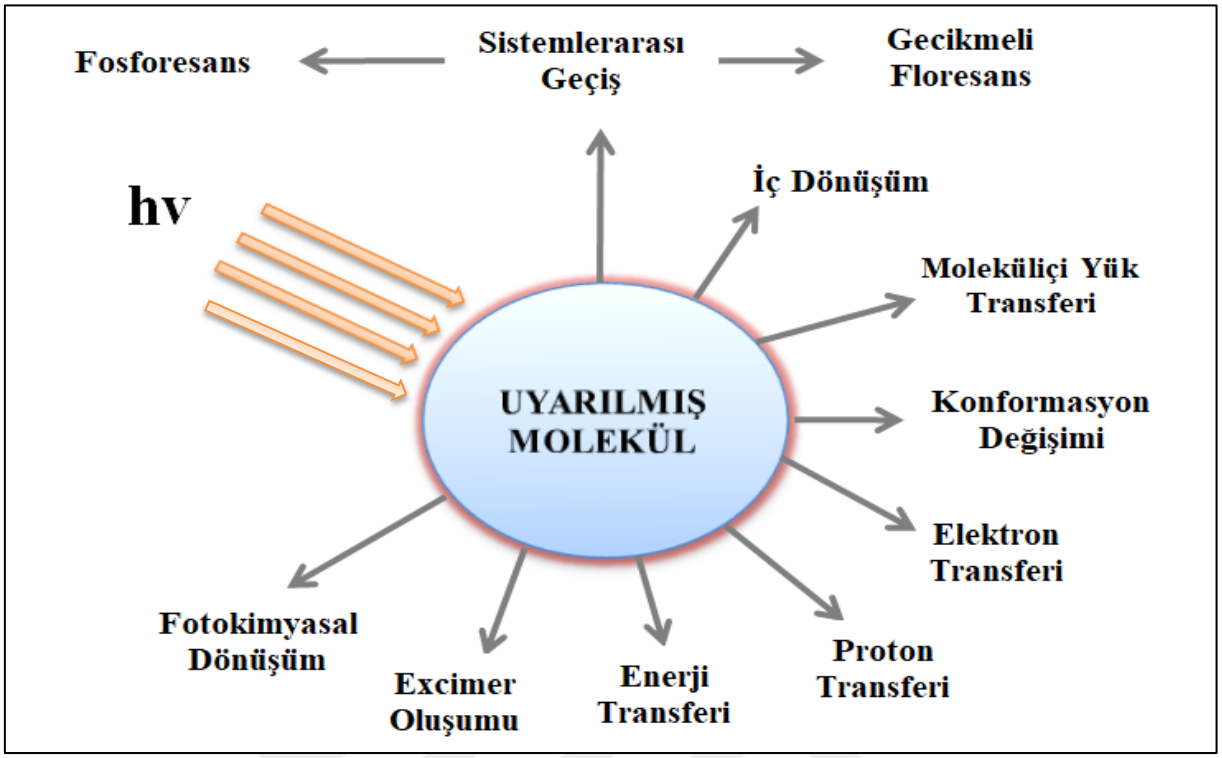
Şekil 2.3: Floresan sensör olarak kullanılan bazı moleküller.

Tablo 2.2: Bazı floresan problar ve uygulama alanları [20]

KAPSAM	AÇIKLAMA
Katı yüzeyler	Kolloidal silikanın doğal yüzeyi, silikajeller, alumina
Biyolojik membranlar	Akışkanlar, yağ-protein etkileşimi, yapısal değişim
Proteinler	Bağlanma Bölgeleri, denaturasyon
Canlı hücrelerde	Membranların, lipitlerin, proteinlerin, hücreiçi pH, enzim aktivitelerinde
Nükleik asitler	Esneklikleri, fotoayrılmaları, deformasyonları
Polimerler	Polimer zincirin dinamikliği, mikroviskozite, faz ayrımı, polimerizasyon görüntülenmeis

2.2.1: Uyarılmış Molekülün Floresans ve Diğer Durulma Prosesleri.

Bir molekül bir fotonu absorblayarak uyarıldığı zaman, temel düzeye, floresans emisyonu saçarak dönebilir. Bununla birlikte çeşitli durulma süreçleri de mevcuttur. Bunlar; iç dönüşüm (temel düzeye floresans emisyonu saçmadan doğrudan geçiş), konformasyon değişimi, sistemler arası geçiş ve molekül içi yük transferi gibi. Uyarılmış formda bulunan moleküllerin diğer moleküller ile reaksiyonu elektron ya da proton transferi, eksimer oluşumu ve enerji transferi gibi durulma süreçleri ile de neticelenebilir. Bu durulma süreçleri, şayet moleküller uyarılmış formda stabil olduğunda skalası ile yaşam süresi mukayese edilebilirse floresans emisyonu ile neticelenebilir. Yaşam süresi, dinamik süreçler ile gözlemlenen deneysel sürenin penceresini ifade etmektedir. Floresansın sahip olduğu özellikler (spektrum, yaşam süresi), bir uyarılma sürecinde uyarılmış formda olan molekül ile yakın çevresinin reaksiyonlarından etkilenmektedir. Birtakım uyarılma süreçlerinde (proton transferi, konformasyon değişimi, eksimer oluşumu, elektron transferi) floresans özelliğe sahip türlerin emisyonunun, başlangıçta uyarılmış molekül ile üst üste gelmesine neden olabileceği durumuna dikkat etmek gerekmektedir. Bu şekil saçılmalar, uyarılmış molekülden gelen öncelikli floresans artışı olarak ayrılması gerekmektedir [21].



Şekil 2.4: Uyarılmış molekülün olası durulma prosesleri.

2.3. BAKIR

2.3.1. Tarihi

1B grubu geçiş elementi olan bakır, tarihte ilk kez Kıbrıs'ta rastlandığından tüm dillerdeki adlarının "Cyprium"dan türediği ileri sürülmektedir. Bakır eşyaların en eskilerinin M.Ö. 4500lü yıllarda yaşamış olan Keldanilere ait olduğu saptanmıştır. Bakır Çin'de M.Ö. 2500 yılında çeşitli alanlarda kullanılmış ve M.Ö. 2250'de ilk bronz dökümü konusunda da kullanılmıştır. Ülkemizde ise bakır, M.Ö. 2000li yıllarda Kastamonu ilimizin Ergani ilçesindeki yatakların Asurlarca işletilmesi ile başlamış bulunmaktadır. Osmanlı döneminde ise 1850'li yıllarda madenlerin idaresi üstlenmiş, 1915 yılında savaşlar sebebiyle durmuş olan üretim Cumhuriyet döneminde 1924 yılında Ergani'de yeniden üretimi başlamıştır. 1935'te Etibank kurulmuş ve ilk blister bakır 1951 yılında imal edilmiştir.

2.3.2. Bakırın Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Bakır, atomik ağırlığı 63,55 olan bir geçiş elementidir. Kararlı izotopları ^{63}Cu ve ^{65}Cu sırasıyla yüzde 69,2 ve 30,8 oranında bulunmaktadır. Tabiatta Cu^0, Cu^+, Cu^{2+}, Cu^{3+} formunda

bulunur. Fakat Cu^{3+} çok nadirdir. İnsan yaşamı için büyük önem teşkil eden bakır, en önemli metallerden biri olup önem açısından Al ve Fe'in ardından üçüncü kademede bulunmaktadır. Isı ve elektriği gayet iyi bir şekilde iletmesi, korozyon ve aşınma gibi olumsuzluklara karşı mukavemeti, gerek sıcak gerekse soğuk formlarda iken işlenme-şekil verilme kolaylığı, hem parlak hem de göze hitap edebilen rengi ve diğer metallerin birçoğuyla alaşım yapabilmesi nedeniyle çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Kırkı aşkın sanayi dalından kablo sanayine, tesisat ve telekomünikasyon kablolarına vb. üstelik beyaz eşya üretimi, elektrikli ev aletleri üretimi ve otomotiv sanayi, elektronik sanayinde de çok yaygın bir kullanım alanı vardır. Bakır, dünya üzerinde yer alan elementler sıralamasındaki yeri 25 olup, yer kabuğunda % 0,0055 oranında bulunmaktadır. Metalik halde bulunan bakır, oksitli ve sülfürlü mineralleri halinde de bulunabilmektedir.

Bakırın insan vücudundaki etkisi, 19. yüzyıldan beri bilinmektedir. Bakırın vücudumuzdaki miktarı çok az olsa dahi, bu değer normal vücut fonksiyonları için de son derece önem teşkil etmektedir. İnsan vücudunda toplamda 100 mg kadar bakır vardır. Daha çok mide yoluyla emilimi sağlanır. Günlük diyetle alınan 2-5 mg'ın 0.6-1.6 mg'ı kadarının emildiği düşünülmektedir. Bağırsaklarda bulunan serbest bakır, aminoasitlerle kompleks oluşturup mukozadan geçiş yaparlar.

2.3.3. Bakırın Sağlık Üzerine Etkisi

WHO (Dünya Sağlık Örgütü) International Programme on Chemical Safety (IPCS: Uluslararası kimyasal güvenlik programı) kapsamında kabul edilebilir düzeydeki, ağız yoluyla Cu(II) alımının üst sınırı yetişkinlerde kesin olarak belirtilmemişse de birlikte günlük birkaç mg'dan fazla olamaz. Hayvanlardaki zehirlenme oranı, insanlardaki ile karşılaştırma ölçütü olarak kabul edilemediğinden bu değerlendirme yalnızca içme sularındaki bakırın mide ve bağırsak etkilerini baz almaktadır. Bakırın hem mide hem de bağırsak üzerinde zehir etkisine dayanan bilgiler dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir. Çünkü, 24 saatlik sürede vücuda alınan toplam miktara bağlı olarak vücutta gözlenen etkileri de değişiklik göstermektedir. Bakırın yüksek dozda alımı hem mukozal ve hem de merkezi sinir sistemi hasarı, böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluğu, anemi gibi hastalıklara sebep olabilmektedir [22]. Ortaya konan son laboratuvar çalışmaları verilerinde, içme sularından alınan Cu etkisi kesin değildir fakat bununla birlikte uzun zaman aralığında oluşabilecek

etkileri, metabolik bozuklukları olan ya da Wilson hastalığı taşıyıcısı olan canlılar için daha tehlikeli olduğu belirtilmiştir [23].

Tablo 2.3: WHO içme sularındaki bakırın sınır değerleri.

Standart değeri	2 mg/L
İçme sularında bulunma oranı	0.005 mg/L'den – 30 mg/L
LOD	0.002 µg/L - 0.1 µg/L ICP-MS 0.3 µg/L ICP-OES 0.5 µg/L FAAS

2.4. BAKIRIN TAYİN EDİLMESİ

Bakır, vücut için gerekli bir metal olup günlük alınması gereken miktar 2 mg civarındadır ve 15 mg'dan fazla alındığında toksik etkide bulunur. ABD'de izin verilen sınır 1,3 ppm olarak kabul edilirken, Kanada 1 ppm ve A.B. 2 ppm'de benzer sınırları açıklamaktadır.

Bu amaçla birçok metot bulunmaktadır. Cu analizi için literatürde; spektrofotometri, alevli atomik absorbsiyon spektrometresi (FAAS), indüktif eşli-plazma emisyon spektrometrisi (ICP-OES), indüktif eşli-plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS), ayrımsal darbe anodik sıyırma voltametrisi ve iyon seçici elektrotlar gibi metotlar tavsiye edilmiştir [24].

AAS, çeşitli bakır analizlerinde sıklıkla kullanılmakta olan bir yöntemdir. Alevli AAS çok hassas ve seçici olduğundan düşük konsantrasyonlarda analiz için kullanılabilmektedir. Daha düşük düzeydeki konsantrasyonların analizi için ise GF-AAS ve ICP-MS tercih edilmektedir. ICP-MS'in ek olarak bir avantajı ise özellikle bakırın kararlı izotoplarının biyoaktifliği ile ilgili olarak bilgi sunması açısından biyolojik çalışmalar için çok faydalı sonuçlar sağlıyor olmasıdır [25].

2.5. YAKIN KIZILÖTESİ ESASLI FLORESAN PROBLAR

Floresan Prob: Tayini yapılacak olan bileşene özgü seçicilik ve hassasiyet gösteren ve etkileşim sonucu yapısında fark edilebilir düzeyde floresans değişim oluşturan, floresans

esaslı sentetik veya doğal bileşiklerdir. Floresan problar ile gerçekleştirilen analiz ve görüntüleme teknikleri biyolojide, biyolojik olaylarda ve bazı bileşenleri görüntülemede vazgeçilmez bir enstrüman haline gelmiştir [26]. Mikroskop altında hücrelerin görüntülenmesi ile mukayese edildiğinde, hem dokuların hem de küçük deney hayvanlarının üzerinde oluşan görüntülemelerin daha zor ve kompleks bir işlem olduğu bilinmektedir. Canlı hücredeki bazı hormon ve proteinlerin suda dağılımı esnasında 200-650 nm dalgaboyu değerlerinde birtakım ışık yayılmaları oluşmaktadır. Üstelik dokular, doğal yapıları gereği fotonlar saçarlar veya saçılan fotonları yansıtırlar [27]. Günümüze kadar gelen süreçte literatüre dahil edilen ve birçok alandaki çeşitli çalışmalar doğrultusunda kullanılan, birçok floresan prob üretilmiştir. Ancak bu probların birçoğu, elektromanyetik spektrumun UV-Vis bölgesinde (400-650) eksitasyon ve emisyon değerlerine sahiptir. İfade edildiği gibi, yüksek doku hücrelerinin yapısından ve bazı vücut içi emilimler sebebiyle otofloresansın da benzer değerler arasında gerçekleşiyor olması sebebiyle bu probların kullanımı zorlaşmakta ya da kullanıldıklarında ortaya çıkan ölçümlerin ve görüntüleme verilerinin doğruluğunda şüpheye neden olmaktadır [28].

Bahsi geçen mevcut problemlerin çözümü için NIR uyarılma ve emisyon dalgaboylarına (650-900 nm) sahip yapılar florofor olarak kullanılmaktadır. Böylelikle görüntüleme süresinde hücrelerde ve dokularda bir hasar meydana gelmeden, görüntüleme ve analiz işlemleri yapılmaktadır. Probun floresansının dokuların kendi doğal yapısından gelen otofloresans ile girişim yapması engellenmektedir. Netice itibariyle biyolojik proseslerle ilgili olarak moleküler düzeyde daha doğru bilgilerin alınması sağlanmaktadır [29].

NIR bazlı floroforların geliştirilmesi son zamanlarda çok büyük bir önem kazanmıştır. Fotodinamik tedavi, biyo-görüntüleme, OLED (organik ışık yayan diyot) teknolojisinde ve optik sensörlerde çok yaygın bir kullanıma sahiptir [29].

Yapılan birçok araştırma neticesinde, bilim adamları biyoloji alanında kullanılabilecek çeşitli niteliklerde ve seçicilikte birçok NIR floresan prob sentezlemişlerdir [30]. Bununla ilgili olarak potansiyel çalışmaların gelişmekte olduğu bu süreçte, NIR özellikli yeni florofor gruplarının geliştirilmesi ise sınırlı sayıda olmuştur. Her ne kadar yeni teoriler ortaya konmuş ise de, NIR bölgede uyarılma ve emisyon değerlerine sahip probların sentezi için çoğunlukla mevcut kullanılan floroforlar (floressein, kumarin, siyanin boyaları ve BODIPY çekirdeği) üzerinde konjuge sistemin uzatılması işlemi yapılmaktadır. Örnek olarak, polimetilen siyanin

boyaların sahip olduğu konjuge sistem ikili bağların artırılması ya da BODIPY boyalarının konjuge sistemler ve diğer heterosiklik yapılar ile birleştirilmesi sonucu moleküllerin daha uzun dalgaboylarında uyarılabilmiştir [31].

Florofor gruplar içerisinde ortalama 100 senelik bir geçmişe sahip olan siyanin boyaları diğer yapılara oranla her zaman için daha çok ilgi görmüştür. Yüksek düzeyde molar ekstinksiyon katsayısına sahip özellik taşımaları, elektromanyetik spektrumun NIR bölgesinde eksitasyon ve düşük miktarda sitotoksik nitelik gösterme gibi avantajları sebebiyle sensörlerde, biyo-görüntüleme ve biyo-etiketleme konularında araştırmacılarca sıklıkla NIR floresan yapısı olarak kullanılmıştır [32]. Genellikle molekül yapıları üzerinde iki tane N atomu yer almaktadır. N atomlarından bir tanesi kuaterner yapıda ve yüksüz formda olan diğer N atomuna konjuge olarak bağlanmış halde yer almaktadır. Molekülün üzerinde bulunan konjuge bağlar üzerinden N atomları arasında yük akışı sağlanmakta ve uzun dalgaboylarında uyarılmalar olmaktadır [33]. Yapılan bazı araştırmalara göre polimetin zincirin belirli bir uzunlukta genişletilmesiyle yüksek dalgaboylarında eksitasyon kapasitesinin arttığı fark edilmiştir. Ancak polimetin zincirinin uzamasına bağlı olacak biçimde molekül içinde agregasyon (yığılma) olarak ifade edilen zincir üzerindeki grupların bazı yerlerden kıvrılarak kümelenmeye gittiği bir oluşum izlenmiştir. Üstelik molekülün kuantum etkinliği ve güçlü nükleofillerin yer aldığı ortamlarda molekülün sergilediği kararlılık azalmaktadır. Bu nedenle siyanin molekülleri üstünde bazı modifikasyonlar yapılması kaçınılmaz hale gelmiştir [34].

Birçok siyanin boyası üretilmiş olmasına karşın, bunların arasında birtakım yapılar da dikkat çekmiştir. Heptametin yapılarının kinolin veya indol türevi yapılar ile kondenzasyonuyla oluşan, kloro-heptametin olarak isimlendirilen heterosiklik bileşikler de bu grupta bulunmaktadır [35]. Molekül üzerinde yer alan Cl atomu, birçok amin ve nükleofiller ile kolaylıkla yer değiştirme özelliğine sahiptir [36].

2.6. BAKIRA SEÇİCİ YAKIN İNFRARED (NIR) FLORESAN PROBLAR

NIR florojenik problar alanında önemli düzeyde gelişmeler meydana gelmekle beraber, bu floroforların biyo-görüntüleme amaçlı olarak biyoaktif moleküllere seçici hale getirilmesi işlemi oldukça yoğun ve prensipli bir çalışma disiplini gerektirmektedir. Geliştirilen probların kimi zaman istenilen hassasiyette cevap vermemesi ise bu gelişmelerin sınırlı sayıda kalmasına sebep olmaktadır.

Literatürde bakır tayini ve görüntülenmesi için birçok florojenik prob geliştirilmiştir. Diğer taraftan, günümüzde bakıra spesifik olan ve NIR bölgede tayin yapabilme imkanı tanıyan sınırlı sayıda florojenik prob geliştirilebilmiştir.

Bu alanda yapılmış olan bir diğer çalışma ise Goaswami ve arkadaşlarının sentezlediği, piren bazlı floresan probtur [37].

Literatürde yer alan prob çalışmasına örnek verilecek olunursa, Tao YANG ve arkadaşları tarafından geliştirilen HHWH floresan probudur. Histidinin imidazol bölgesindeki azot atomlarının bakır ile kompleksleşmesi floresans özellik kazandırmıştır [38].

Bu konuda literatüre en son kazandırılan Cu^{2+} probu ise Zhiyang Xu ve ekibi tarafından geliştirilmiştir. Çalışmada, sentezlenmiş molekülde yer alan hidroksil grubunun dehidrojenasyonu sonucu oluşan oksijen atomunun ve amid grubundaki oksijen atomunun Cu^{2+}'ye bağlanması sonucu floresans özellik kazanmaktadır [39].

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZLAR

Çalışmamızda yer alan cihazlar; kimyasalların tartımı için RADWAG marka Was 220X model analitik terazi, hazırlanan çözeltilerin pH'larının tayini için Mettler Toledo pH-metre, floresans ölçümleri için Varian Cary Eclipse model spektroflorometre ve ölçüm yapmak için HELMA marka 10 mm ışık yollu kuartz küvet, distile su üretimi için Millipore Simpak 1 Synergy 185 distile su sistemi, molekülün karakterizasyonu için Bruker Biospin 500 MHz NMR spektrometre ve karşılaştırma için Agilent Technologies 7700 series marka ICP-MS kullanılmıştır.

3.2. KİMYASALLAR

Sentez aşamasında ve spektroskopik ölçümler sırasında kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler Sigma-Aldrich ve Merck'ten temin edilmiştir. Spektroskopik ölçümlerde kullanılan katyon (Ni^{2+}, Co^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{+}, Zn^{2+}, Na^{+}, K^{+}, Cd^{+}, Pb^{2+}) stok olarak kullanılmıştır. Solvent olarak EtOH, pH etkisinde de PBS tampon kullanılmıştır. Herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmamıştır. Gerçek numune olarak sanayi atık suyu ve piyasadan temin edilen içme suyu kullanılmıştır. Kullanılan kimyasallar analitik saflıktadır.

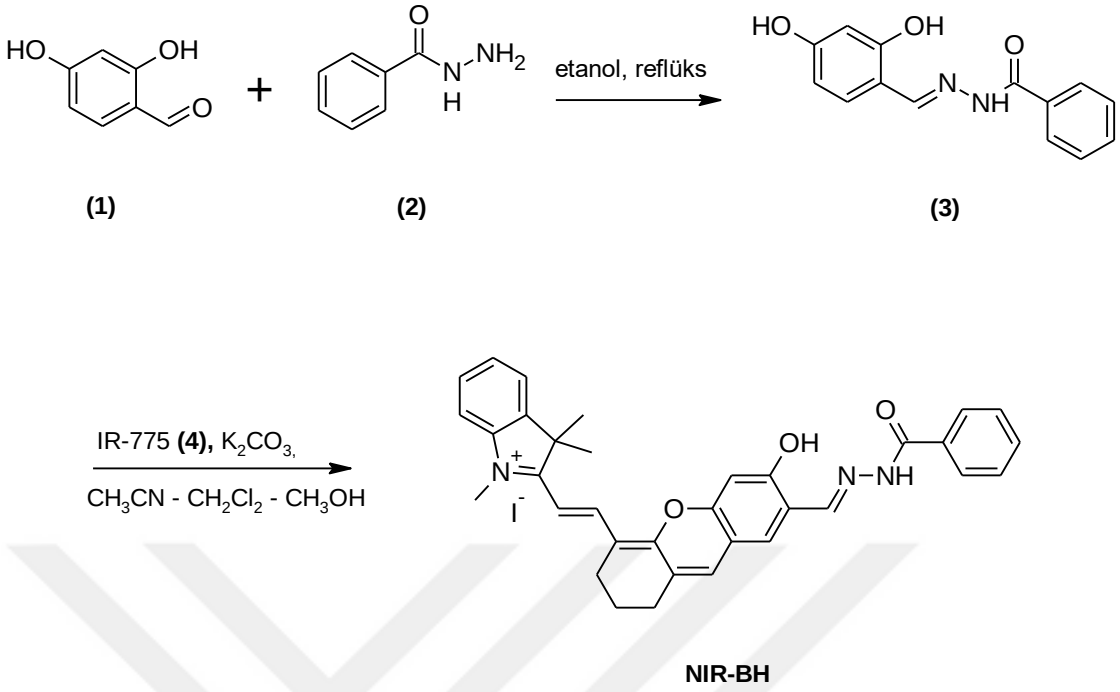
3.3. BAKIR İÇİN GELİŞTİRİLEN YENİ PROBUN GENEL MOLEKÜL YAPISI, SENTEZİ VE MEKANİZMASI

3.3.1. NIR-BH Genel Molekül Yapısı

NIR bölgede emisyon dalgaboyuna sahip problar araştırıldığında, kullanılan floroforların daha çok siyanin boyaları olduğu anlaşılmaktadır.

Bu tez kapsamında geliştirilmiş olan probun yapısı da siyanin floroforunu baz almasının yanı sıra, bugüne kadar yapılmış Cu(II) problarından farklı ve özgün bir çalışma olacağı ön görülmektedir.

Geliştirilen NIR özellikli bakır probunun genel yapısı Şekil 3.1'de gösterildiği gibidir.



Şekil 3.1: Tez kapsamında geliştirilen florojenik NIR-BH probunun sentez prosedürü.

3.3.2. NIR-BH Sentezlenmesi

N'[(E)-(2,4-dihidroksi-benziliden] benzohidrazit (3):

2,4-dihidroksibenzaldehit (**1**;10 mmol) ve benzohidrazit (**2**; 10 mmol) 30 ml EtOH içerisinde 5 saat boyunca reflüks edildi. Reaksiyon sonucu oluşan çökelti süzülerek alındı ve 50 ºC'de 1 gece kurutuldu. Etanolde yeniden kristallendirildi. Verim: %80, 2,05 g, e.n. 113 ºC – 115 ºC, sarı renkli katıdır.

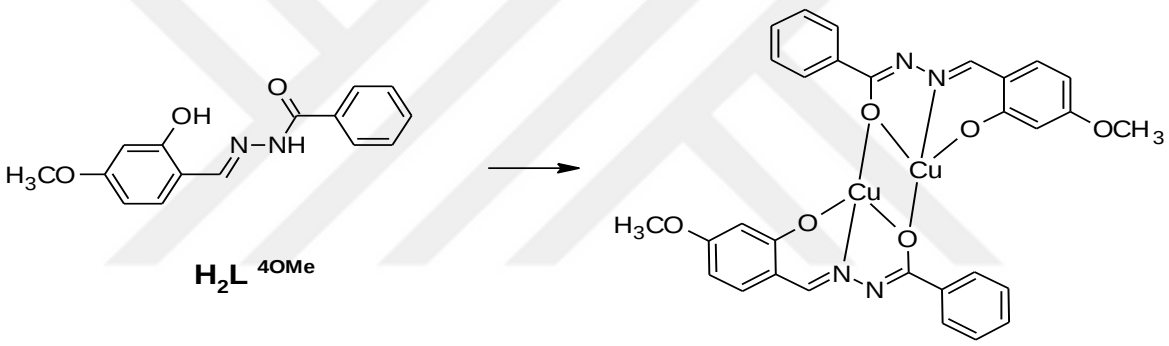
Probun Sentezlenmesi:

3; (6 mmol, 1.55 g) ve potasyum karbonat (K_2CO_3, 6 mmol, 850 mg) 25 ml asetonitril-metanol (4:1) içerisinde, N atmosferinde ve oda sıcaklığında 30 dk manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra, ayrı bir beherde asetonitril-diklormetan-metanol (3:1:1) solvent karışımı içerisinde çözeltisi hazırlanmış olan IR-775 (**4**; 3 mmol, 1.85 g) cam şırınga yardımıyla mevcut karışımın içerisine enjekte edildi. 6 saat süreyle 50 ºC'de manyetik karıştırıcıda ve azot atmosferinde reflüks edildi. Oda şartlarına soğutulan balon süzüldü. Solvent vakumda uzaklaştırıldı. Madde kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırıldı. (Yürütücü faz olarak önce 100:1 oranında diklorometan-metanol ve devamında solvent

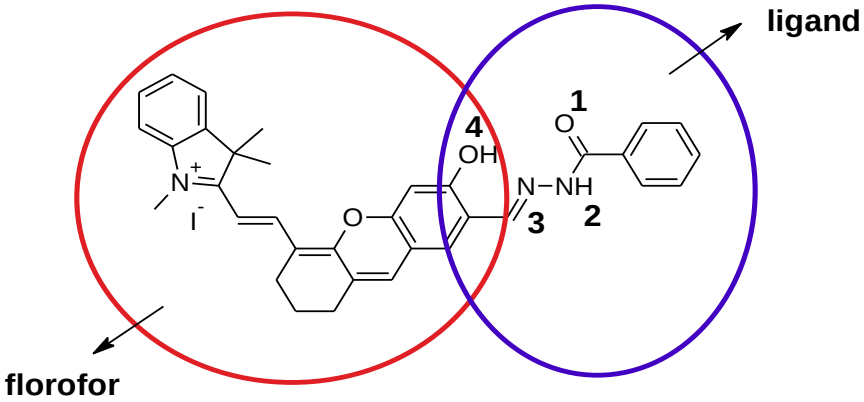
polaritesinin artırılması sonucu 1:1 oranında diklormetan-metanol oranının sağlandığı solvent karışımı kullanıldı.) Verim: %10, 40 mg, lacivert renkli toz kristal şeklindedir.

3.3.3. NIR-BH Probunun Cu^{2+} Katyonuyla Meydana Gelen Reaksiyon Mekanizması

Tez kapsamında sentezlenen NIR-BH prob molekülü, NIR bölgede emisyon dalgaboyuna sahip olan florofor (hemisiyanin türevi) ve Cu^{2+} katyonuyla kimyasal bağlar ile iki adet oksijen, bir adet azot atomu üzerinden kimyasal bağlar ile kompleks oluşturan yapının (3,benzohidrazit türevi) arasında gerçekleşen kondenzasyon reaksiyonuyla elde edildi. NIR-BH molekülünün üzerinde Cu^{2+}'ye seçici olarak yanıt veren yapı (**3**), Cindric ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda da Cu^{2+} katyonları için seçici olması dolayısıyla ligand olarak kullanılmıştır [40].



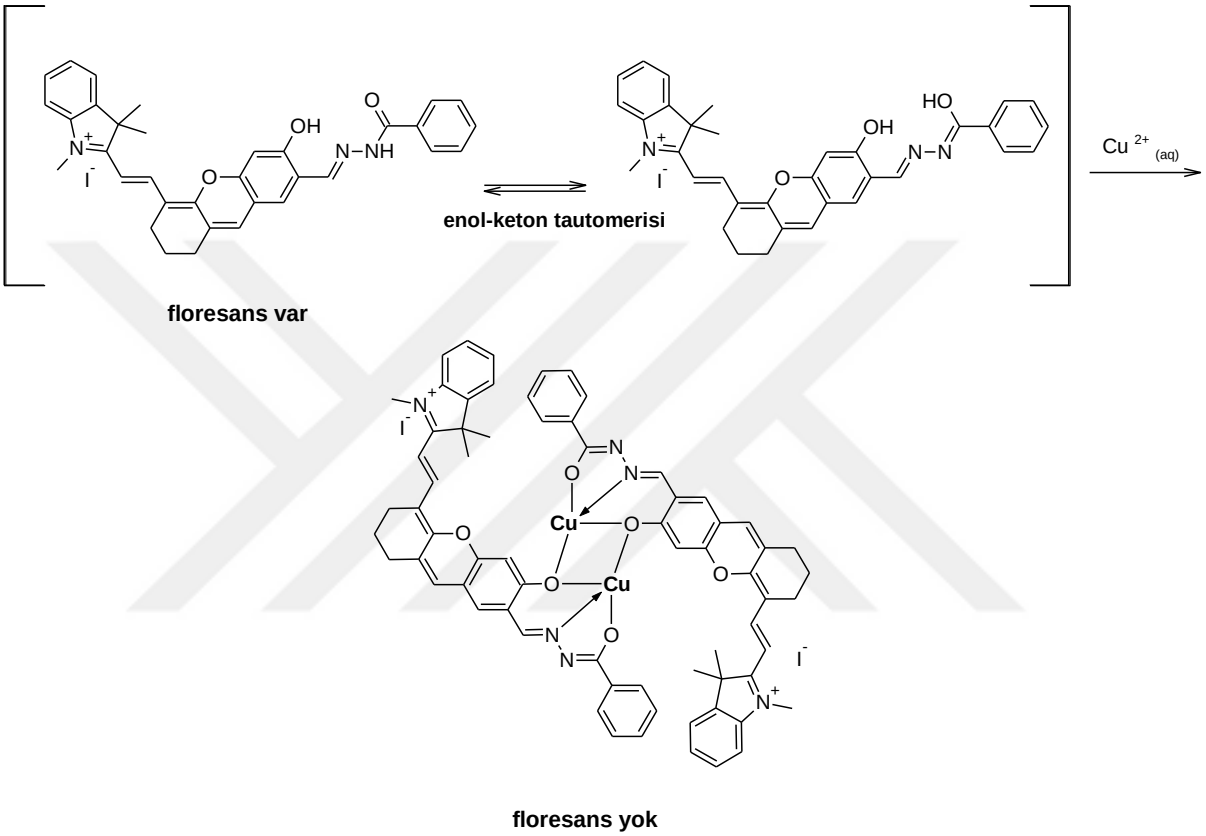
Şekil 3.2: Cindric ve arkadaşlarının çalışmasında benzohidrazit türevi ligandın kullanılmasıyla elde edilen Cu^{2+} metal kompleksi.



Şekil 3.3: Tez çalışması kapsamında sentezlenen NIR-BH molekülünün üzerindeki florofor ve ligand yapılar.

Tuzları üzerinden çözeltisi hazırlanan Cu^{2+} katyonları NIR-BH ile aynı ortamda bulunduğunda, Şekil 3.4'teki 1,3,4 numaralı oksijen ve azot atomları üzerinden moleküle

bağlanıp metal kompleksi oluşturmaktadır. Paramanyetik özellik gösteren Cu^{2+} katyonları, molekül üzerindeki elektron delokalizasyonunu etkileyerek prob moleküldeki mevcut floresans intensitesini konsantrasyona bağlı olarak artan oranda sönümlediği tespit edildi. NIR-BH ile Cu^{2+} katyonları arasında gerçekleşen kompleks oluşum mekanizması şekildeki gibi ön görülmüştür.



Şekil 3.4: NIR-BH ile Cu^{2+} katyonları arasında gerçekleşen kompleks oluşum mekanizması.

3.4. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

3.4.1. $CuCl_2$ Çözeltisinin Hazırlanması

$CuCl_2.2H_2O$ metal tuzundan 17,04 mg tartıldı. Ardından distile su ile çözünmesi sağlandı. 10^{-3} M konsantrasyonda çalışma stok çözeltisi için balon jojede distile su ile hacim 100 ml'ye tamamlandı. Çalışmamızdaki çözeltilerin konsantrasyonlarını 10^{-5}'te tutmak için de 10^{-3}'te hazırlanan çözeltiler 100 kat seyreltildi.

3.4.2. NIR-BH Çözeltisinin Hazırlanması

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen prob bileşiğinden 16,4 mg tartıldı. 2 ml diklorometan ve 5 ml EtOH ile çözünmesi sağlanıp 10^{-3} M konsantrasyonda çalışma stok çözeltisi için balonjojede etanol kullanılarak hacim 50 ml'ye tamamlandı. Çalışma konsantrasyonu 10^{-5} M için, 10^{-3} M çözelti 100 kat seyreltildi.

3.4.3. Diğer Metal Çözeltilerinin Hazırlanması

Zn^{2+}, Fe^{2+}, Na^{+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Mn^{2+}, K^{+}, Cd^{2+}, Pb^{2+} iyonlarının 10^{-3} M derişimdeki stok çözeltileri, suda çözünen tuzlarından uygun tartımlar alınarak hazırlandı. Stok çözeltiler 100 kat seyreltilerek 10^{-5} M konsantrasyonda kullanıldı.

3.5. UYGULANAN YÖNTEMLER

3.5.1. NIR-BH Molekülünün Yapısının Aydınlatılmasında Kullanılan Yöntemler

Tez kapsamında sentezlenen NIR-BH molekülü ^{1}H-NMR ve HRMS teknikleri kullanılarak incelenmiş ve molekül yapısının karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.5.2. Geliştirilen Florometrik Yöntem

Tez kapsamında geliştirilen yeni metotta 10^{-5} M NIR-BH çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltiye 10^{-5} M $CuCl_2$ çözeltisi ilavesiyle probun floresans intensitesinde oluşan değişimler değerlendirildi. Cu^{2+} dedeksiyonu için geliştirilen yeni florometrik yönteme göre son hacmi 3 ml olan reaksiyon karışımı: 0,5 ml NIR-BH (10^{-5} M) + x ml Cu^{2+} (10^{-5} M) + (2,5-x) ml EtOH şeklindedir. Karışımın oda sıcaklığındaki inkübasyon süresi 1 dakikadır. Ortam pH değeri 6 ila 6,5 arasında olup eksitasyon dalgaboyu (λ_{eks}) = 680 nm ve emisyon dalgaboyu (λ_{em}) = 750 nm'deki intensiteleri ölçülmüştür. Geliştirilen yeni florojenik probun seçimli bir şekilde, bakıra cevap verdiği kanıtlanmıştır.

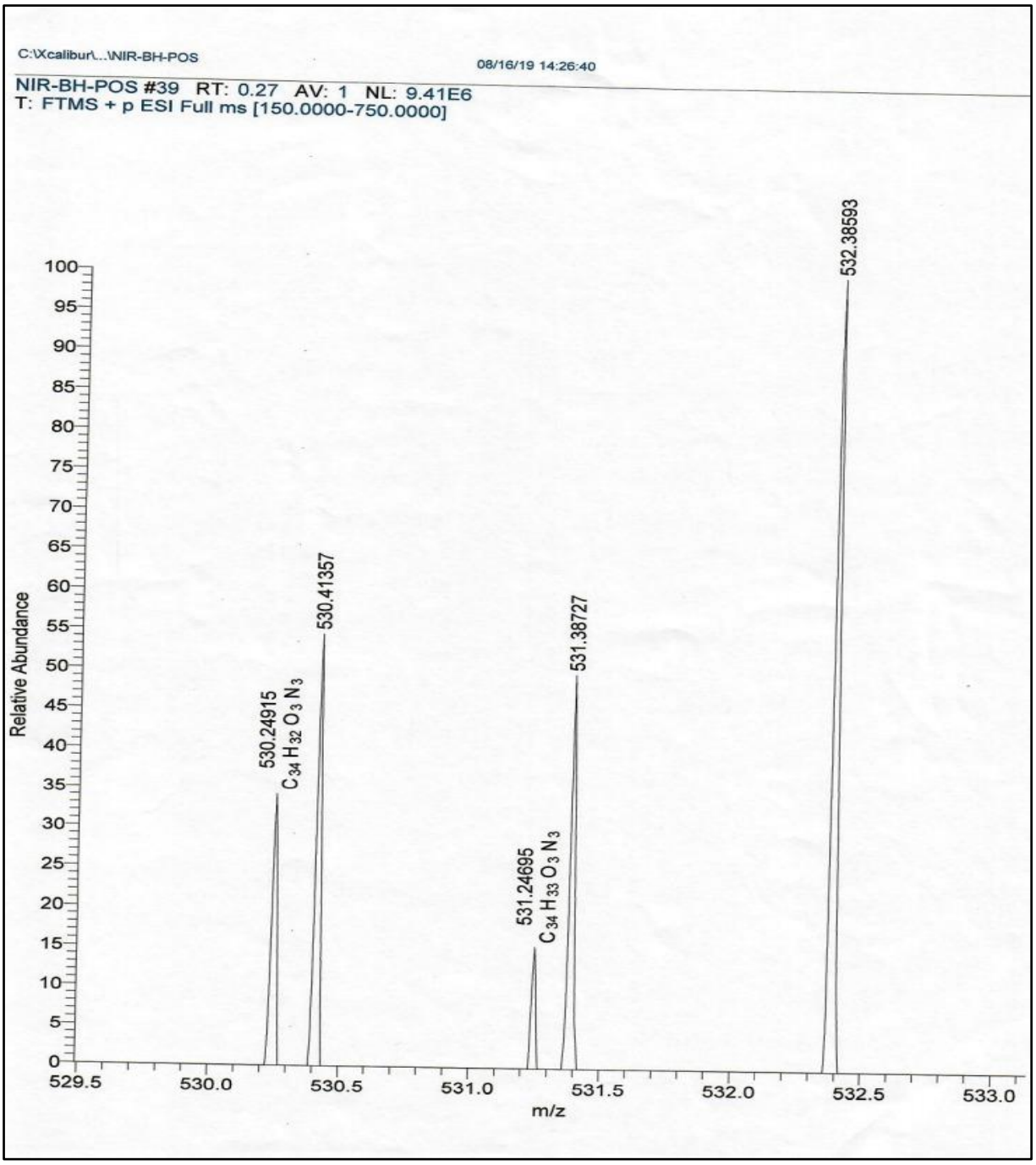
3.5.3. ICP-MS Referans Yöntem

Çalışılan su örneklerinin Cu^{2+} içeriklerini belirlemek için referans yöntem olarak ICP-MS kullanılmıştır. Çalışma parametreleri; 324,25 nm dalgaboyu, 1000 W RF güç, 1 ml/dk örnek alım hızı şeklinde uygulanmıştır. Kalibrasyon grafiği 0,1-10 ppm aralığında oluşturulmuştur.

4. BULGULAR

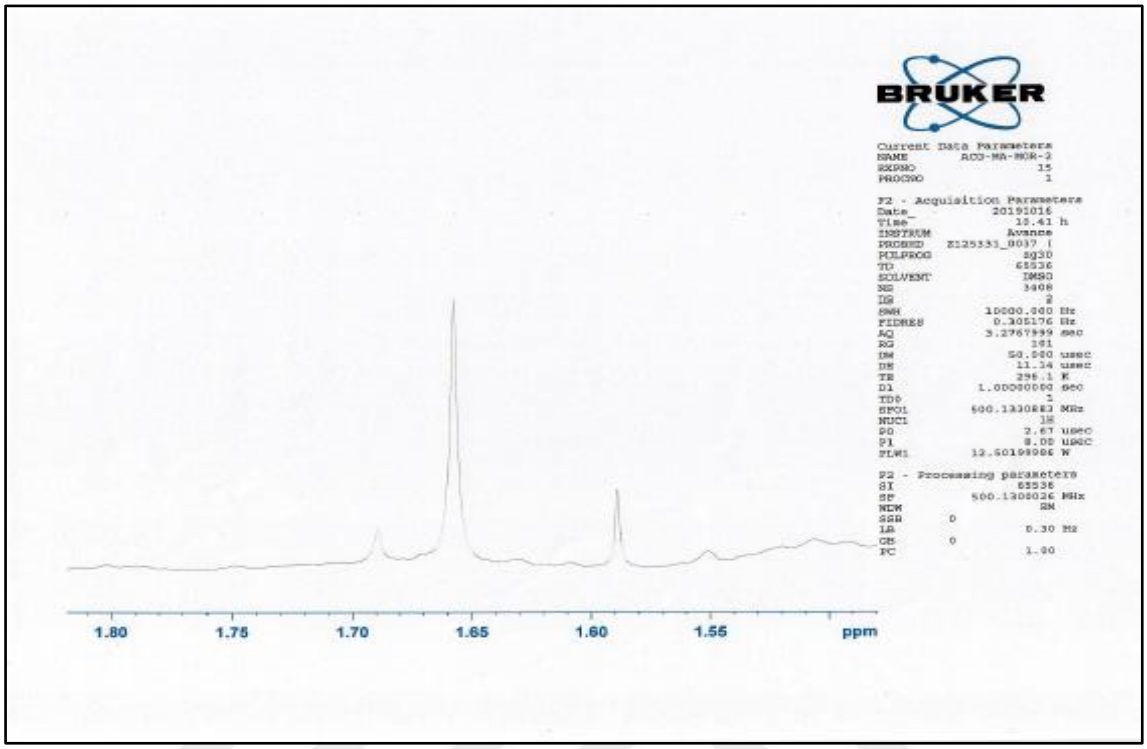
4.1. NIR-BH'İN YAPISININ KARAKTERİZASYONU

4.1.1. HRMS Spektrumu

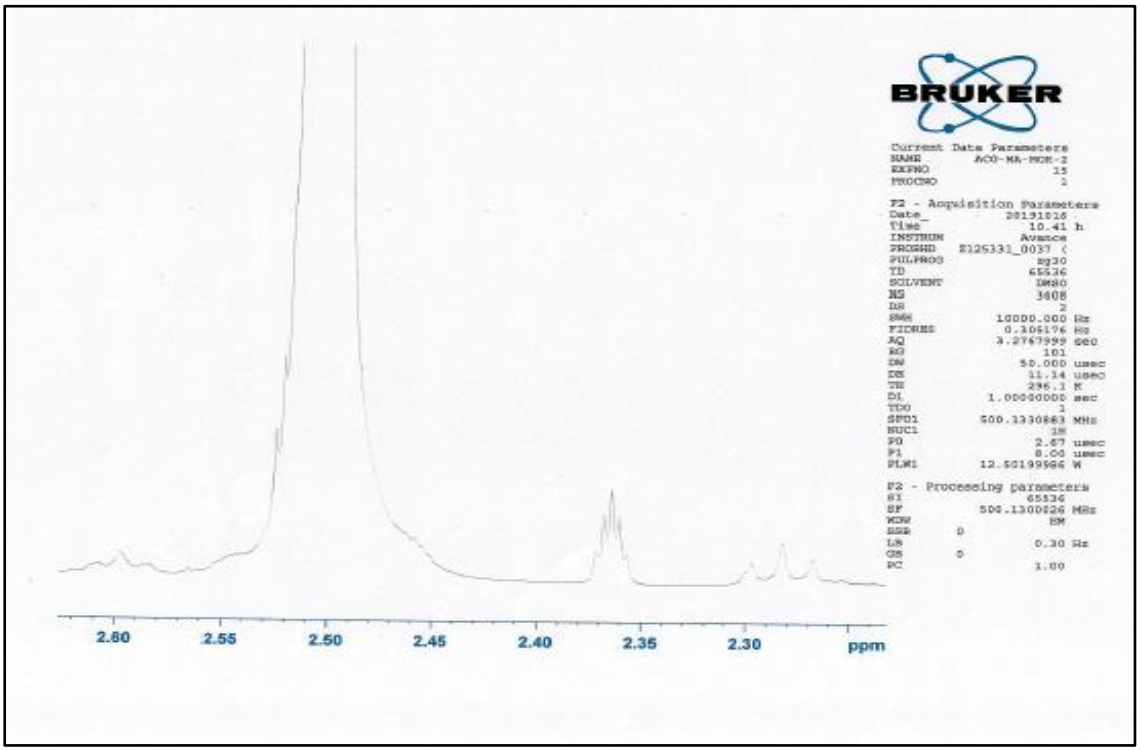


Şekil 4.1: NIR-BH molekülünün HRMS spektrumu.

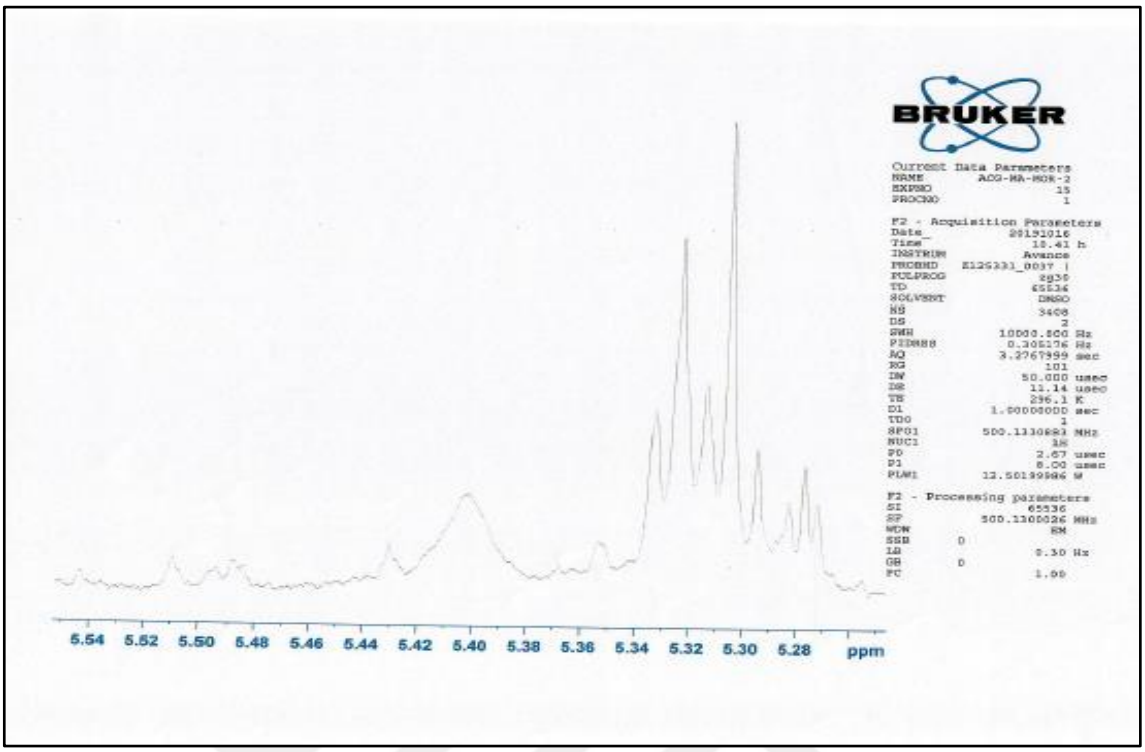
4.1.2. ^{1}H-NMR Spektrumları



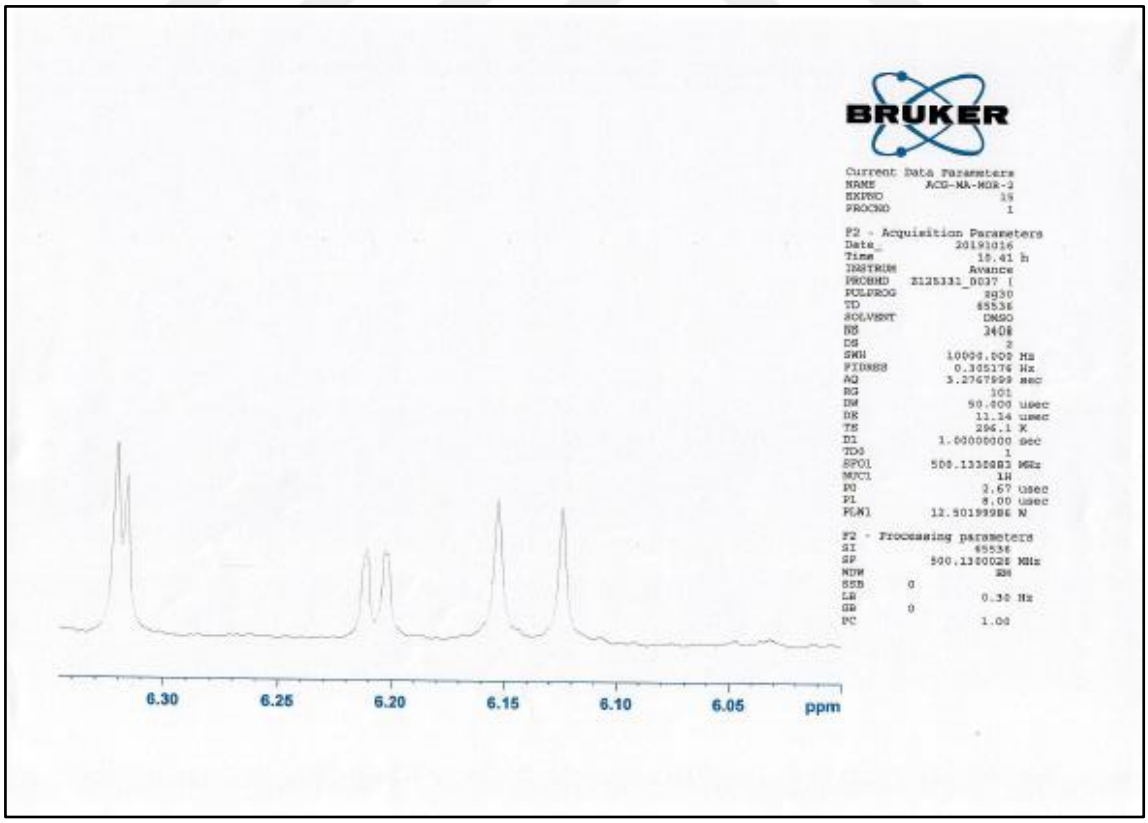
Şekil 4.2: NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



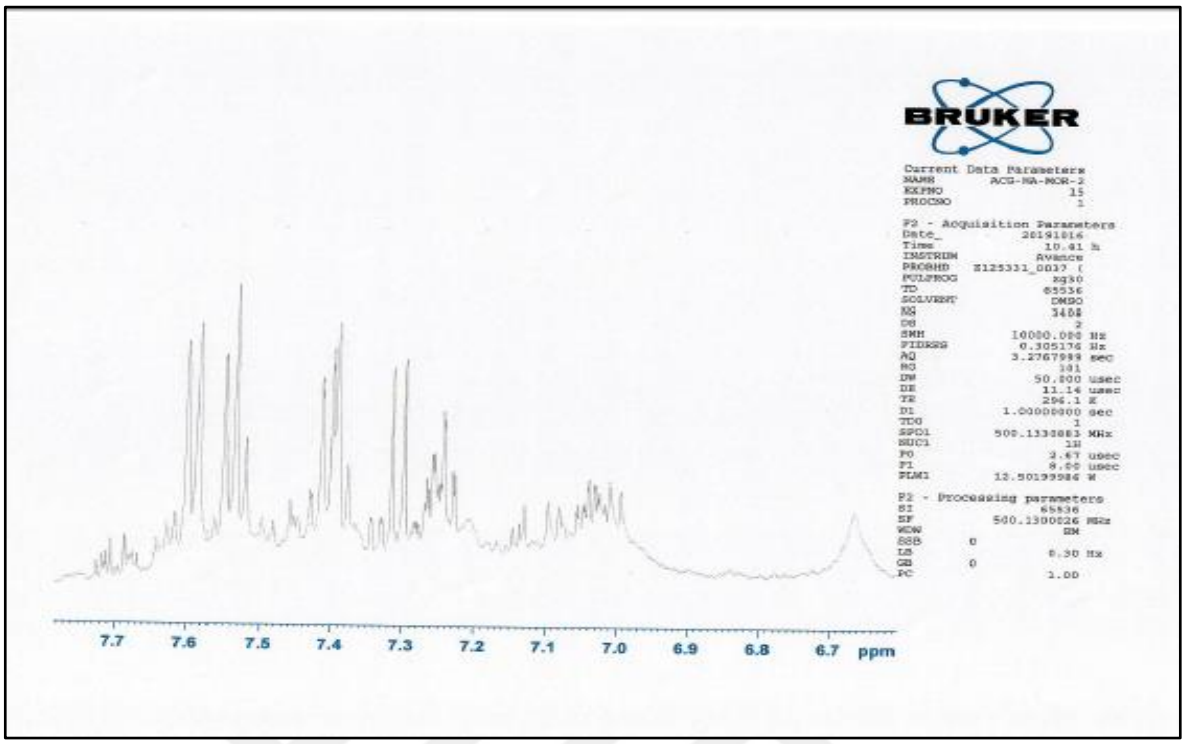
Şekil 4.2 (devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



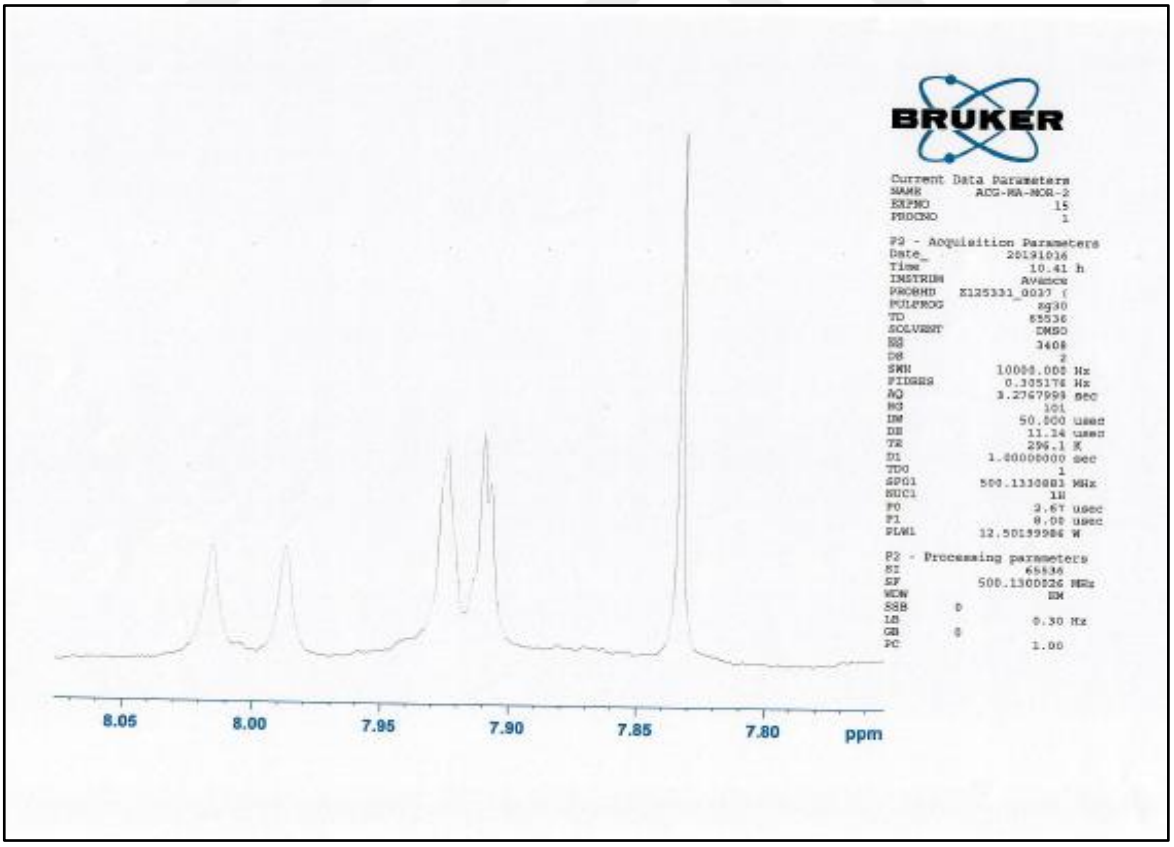
Şekil 4.2(devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



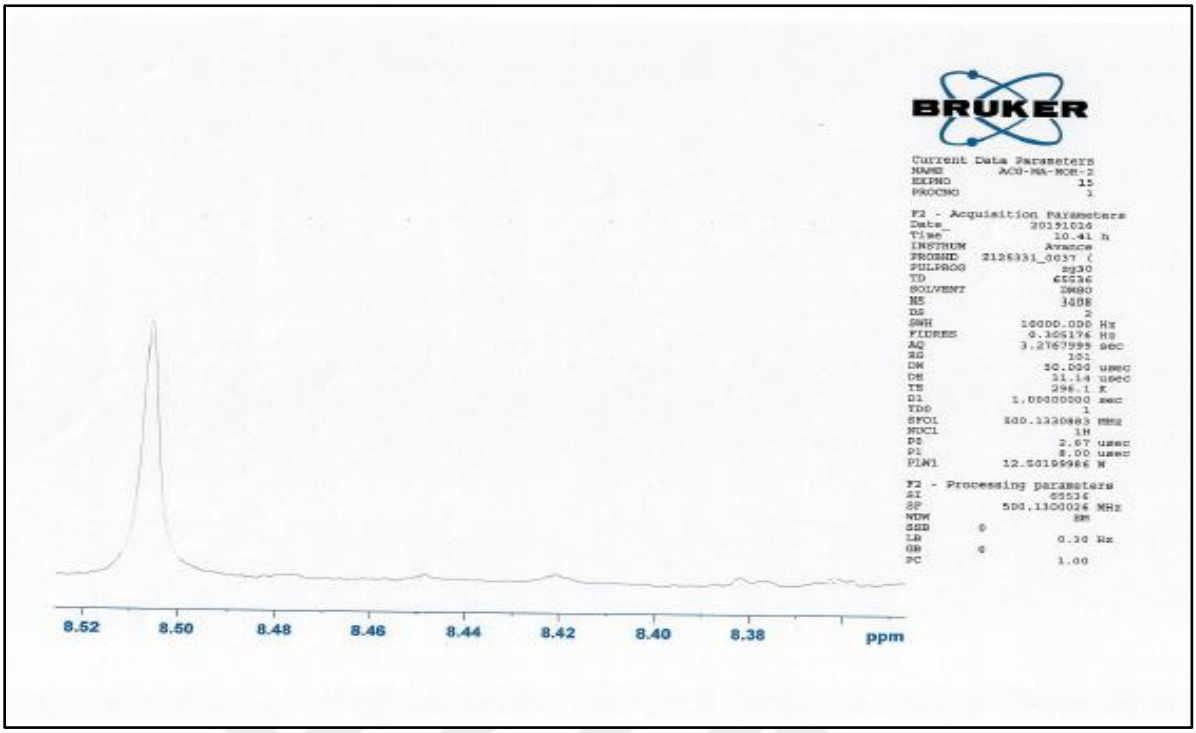
Şekil 4.2(devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



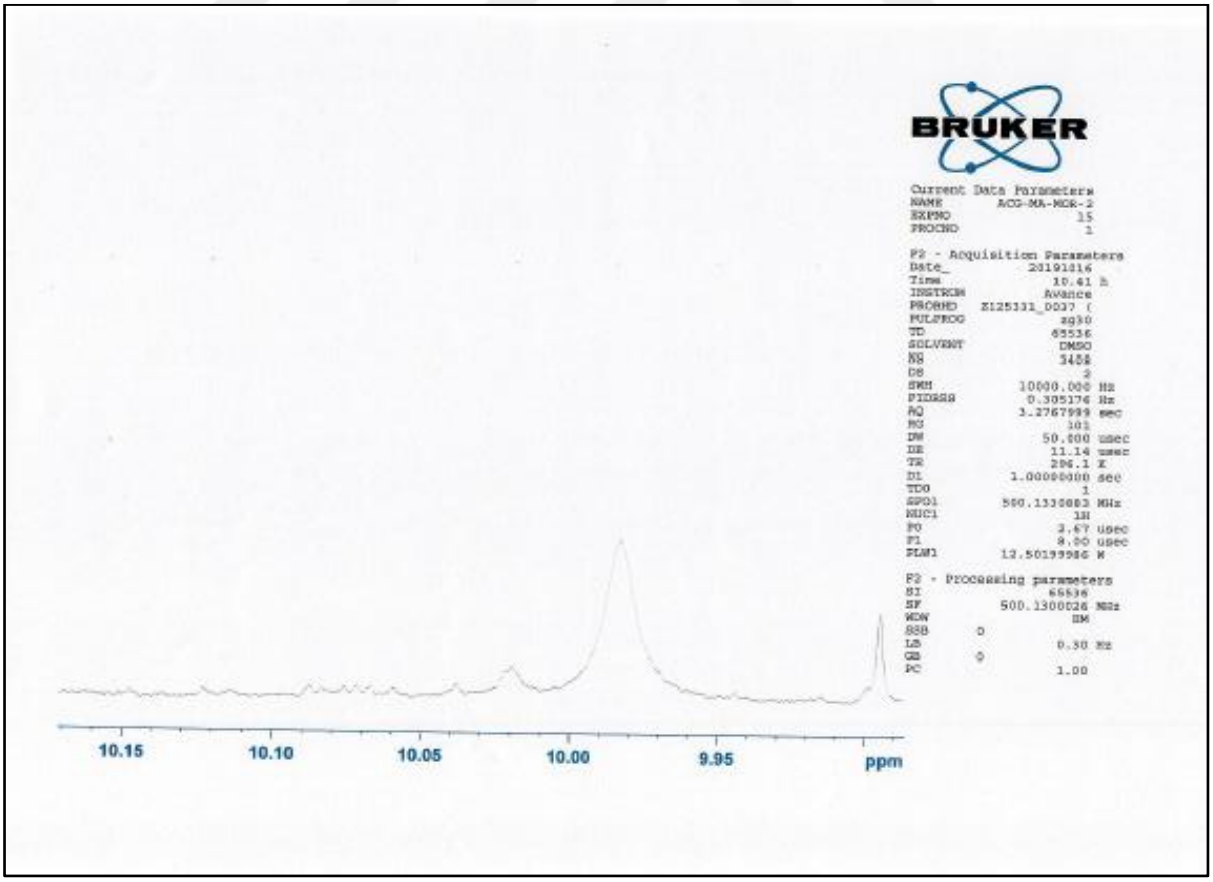
Şekil 4.2(devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



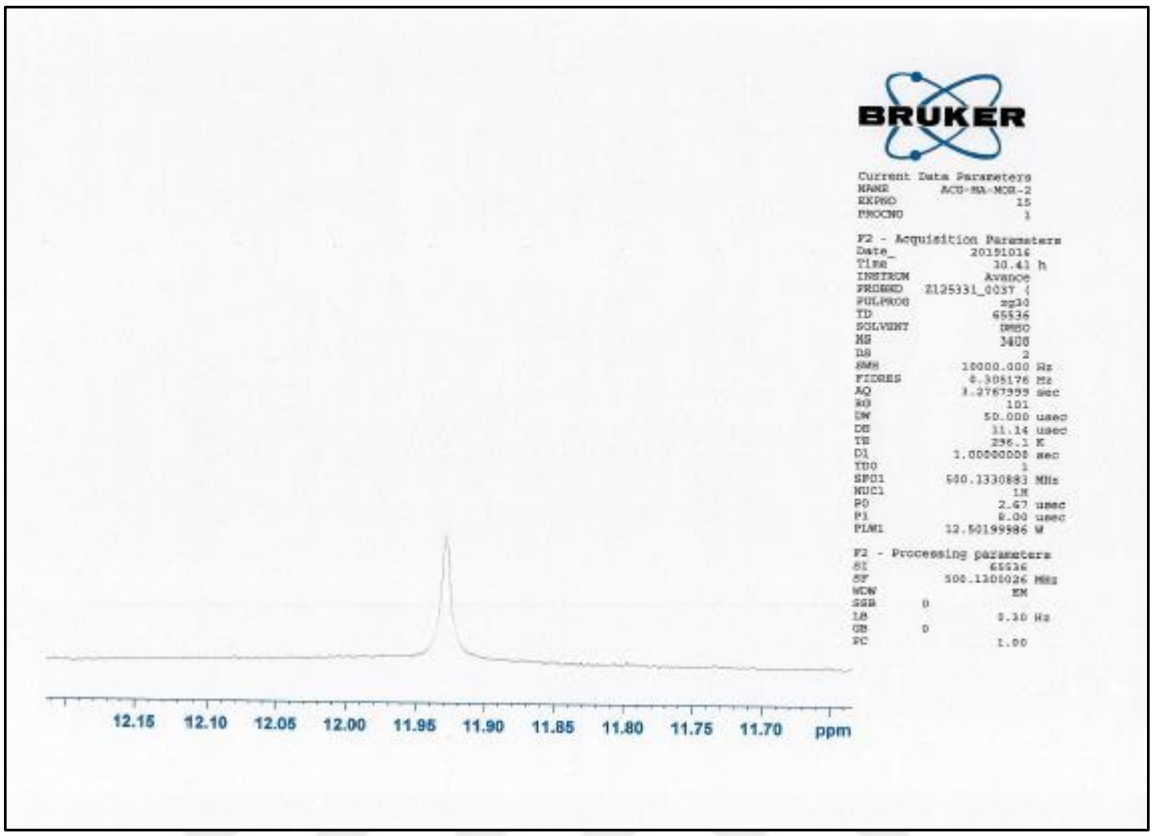
Şekil 4.2(devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



Şekil 4.2(devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



Şekil 4.2(devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.



Şekil 4.2(devam): NIR-BH molekülüne ait muhtemel ^{1}H-NMR spektrumu.

$C_{34}H_{32}N_3O_3^-$: Exact mass (*m*/*z*): 530.6356. Found: 530.2434 ^{1}H NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) δ/ppm: 11.9 (1H, bs), 8.5 (1H, s), 7.83 (1H, s), 7.51 (2H, dt, J = 7.2 Hz), 7.39 (2H, m), 7.2–7.35 (5H, m), 7.05 (1H, dt), 6.36 (1H, d J = 14.5 Hz), 6.13 (1H, d, J = 14,5 Hz), 5.4 (1H, bs), 5.30 (1H, s), 2.6 (2H, m), 2.3 (2H, m), 1.68 (3H, s), 1.53 (6H, s), 1.5 (2H, m).

4.2. NIR-BH PROBU İLE FLOROMETRİK BAKIR(II) TAYİNİ

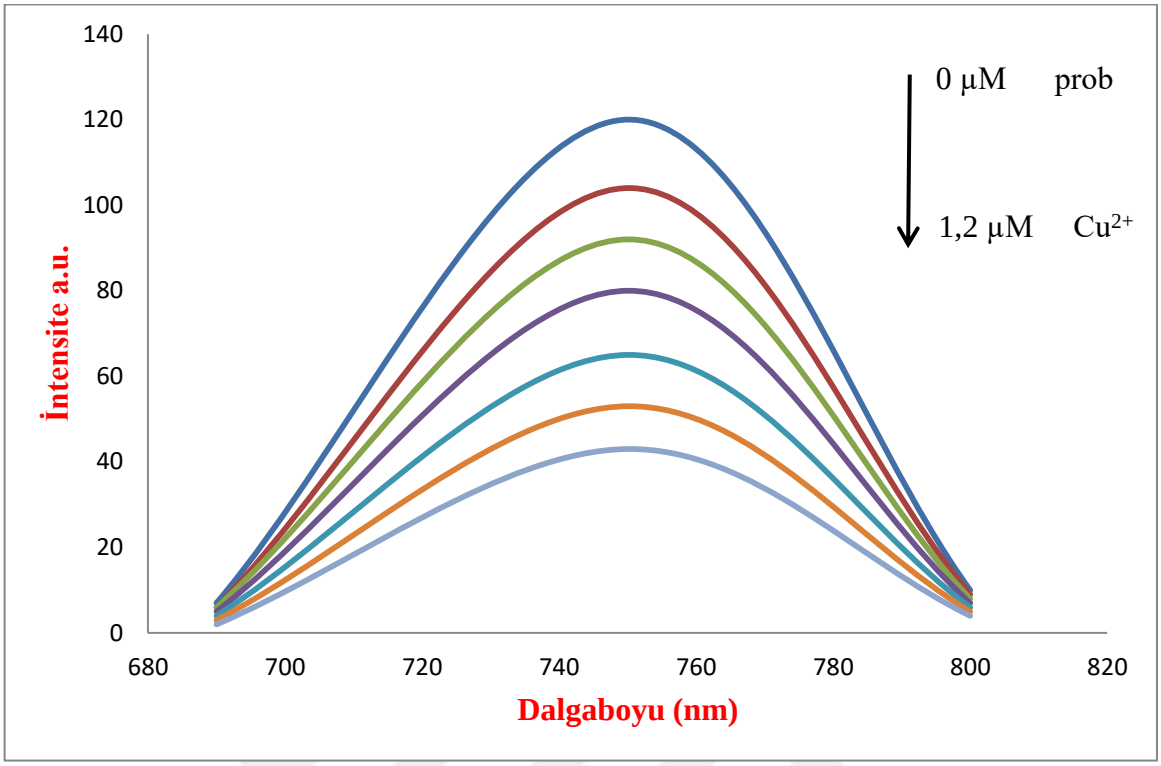
Çalışmamız kapsamında geliştirdiğimiz NIR-BH'in en uygun eksitasyon ve emisyon dalgaboyları spektroflorometre cihazında yapılan 3 tekrar okuma ile tespit edildi. NIR-BH prob çözeltisinden (10^{-5} M) tüpe 0,5 ml alındı. $CuCl_2$ çözeltisinden (10^{-5} M) belli hacimlerde ilave edildi. Toplam hacim 3 ml olacak şekilde geriye kalan kısım etanol ile tamamlandı. NIR-BH probu ile bakırın katılma reaksiyonu hızlı bir şekilde gerçekleştiğinden optimum reaksiyon süresi 1 dakika olarak belirlenmiştir. Eksitasyon dalgaboyu (λ_{ex}) 680 nm, emisyon dalgaboyu (λ_{em}) 750 nm olarak tespit edilmiştir. Bakır için 750 nm'deki intensite değerleri kullanılarak florometrik yönteme göre kalibrasyon doğru denklemi ve korelasyon katsayısı (Tablo 4.1), emisyon spektrumu (Şekil 4.3) ve ilgili kalibrasyon grafiği (Şekil 4.4) aşağıda verilmiştir.

Blank: 0,5 ml NIR-BH (10^{-5} M) + 2,5 ml EtOH (başlangıç intensitesi (I): 120)

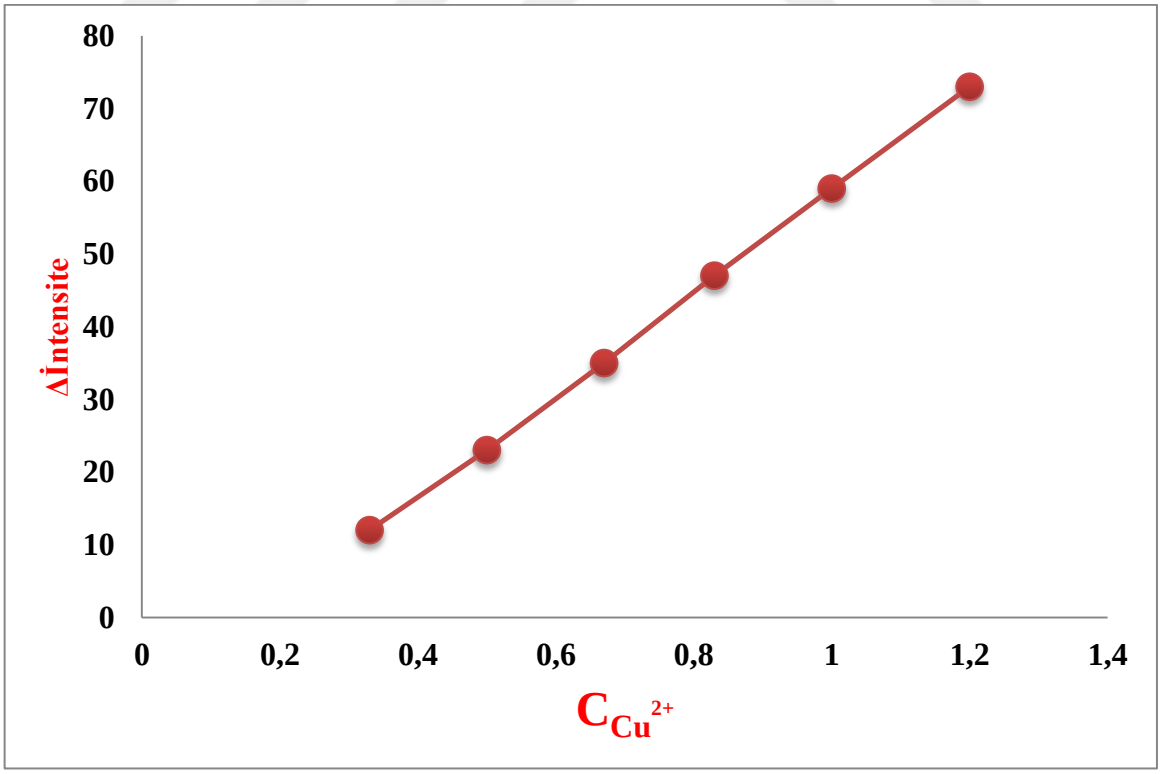
Örnekler: 0,5 ml NIR-BH (10^{-5} M) + x ml Cu^{2+} (10^{-5} M) + (2,5-x) ml Et-OH; V_t=3 ml

Tablo 4.1: Bakırın konsantrasyon (c) - intensite (I) değerleri (λ_{eks}=680 nm; λ_{em}=750 nm) ve doğru denklemi.

$[Cu^{2+}](\mu M)$	**I**	**ΔI**
0,33	108	12
0,50	97	23
0,67	85	35
0,83	73	47
1,00	59	61
1,20	47	73
Doğru denklemi: $y= 70,71[Cu^{2+}] – 11,88$; r=0,998; I_{NIR-BH}= 120		



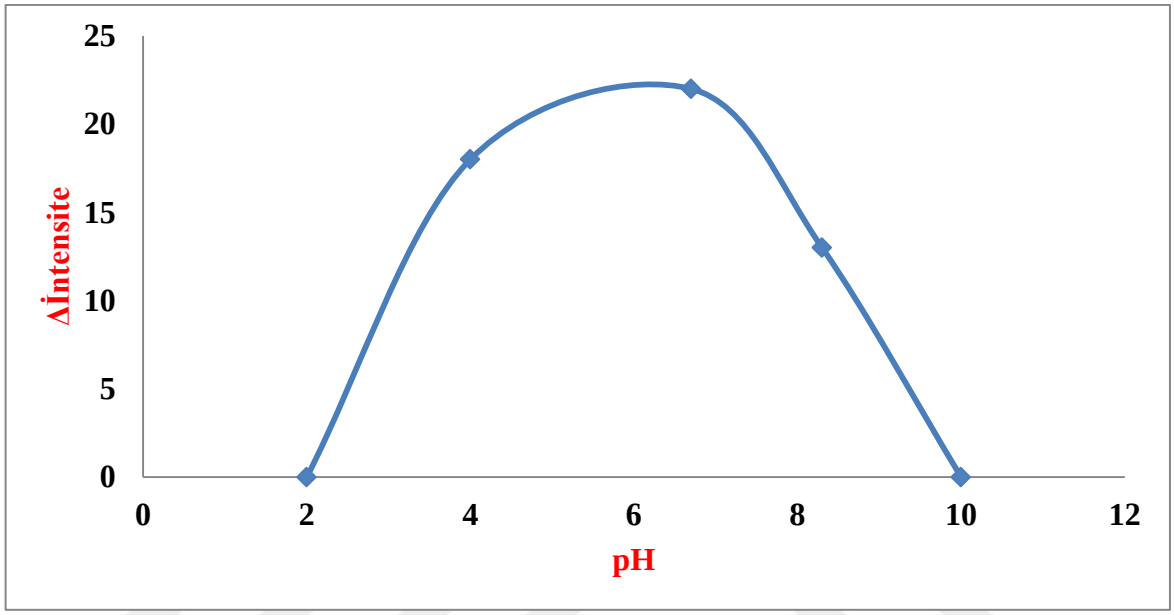
Şekil 4.3: NIR-BH ve bakır arasındaki kompleksleşme oranına göre floresans intensite değişim grafiği (λ_{eks}=680 nm; λ_{em}=750 nm).



Şekil 4.4: Cu^{2+}'nin florometrik yöntemle elde edilen kalibrasyon eğrisi.

4.2.2. pH Etkisi

NIR-BH (10^{-5} M) + Cu^{2+} (10^{-5} M) çözeltisinin farklı pH değerlerindeki (2-10) intensite değerleri izlenerek (λ_{eks}=680 nm; λ_{em}=750 nm) maksimum floresans intensitesinin elde edildiği pH 6,7 yeni geliştirilen florojenik yöntemde optimal pH olarak belirlenmiştir.

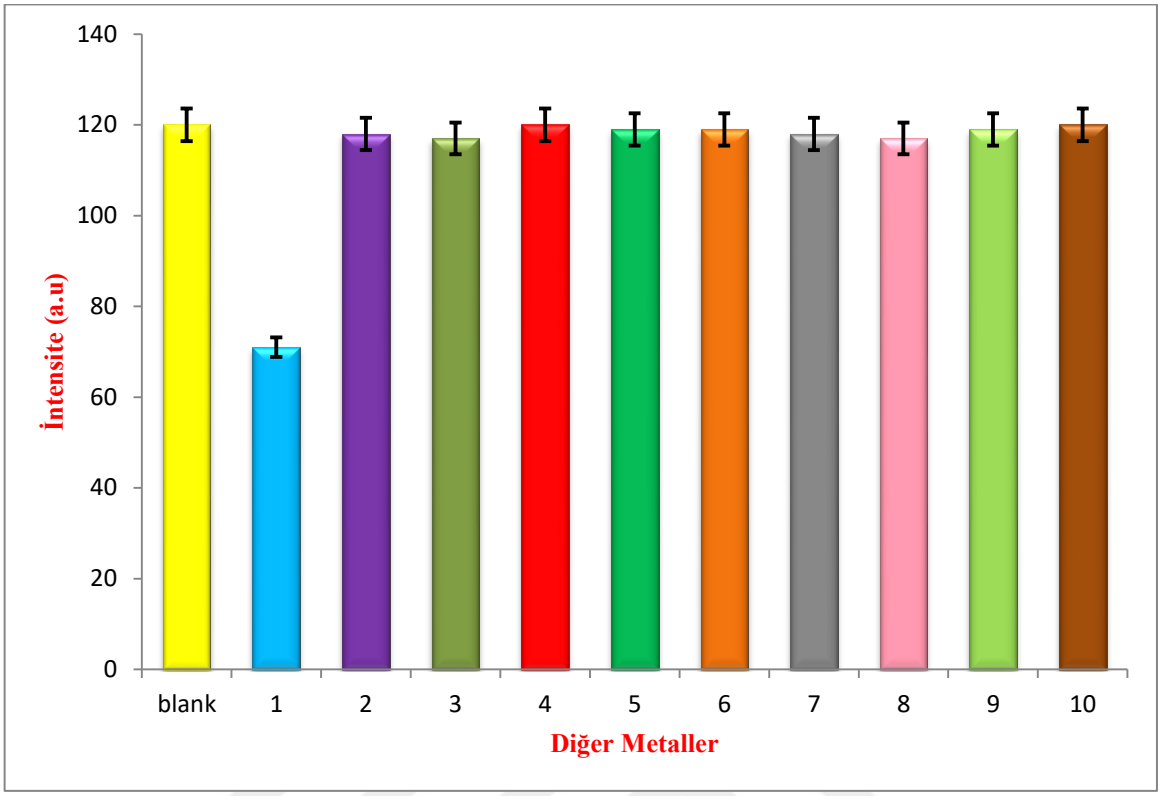


Şekil 4.5: NIR-BH+Cu^{2+} çözeltisinin intensite değerlerinin (λ_{em}=750 nm) pH'ya bağlı olarak değişimi.

4.2.3. Metal İyonları etkisi İnterferans Etki

NIR-BH probunun seçimliliğini göstermek için bazı metal iyonları (başlangıç konsanstrasyonu: 10^{-5} M; çinko (Zn^{2+}), nikel (Ni^{2+}), mangan (Mn^{2+}), kobalt (Co^{2+}), demir (Fe^{2+}), sodyum (Na^{+}), potasyum (K^{+}), kadmiyum (Cd^{2+}), kurşun (Pb^{2+})) yeni geliştirilen florojenik yöntemle analiz edilmiştir. İlgili katyonların NIR-BH probuna ilavesi sonucunda elde edilen floresans intensiteleri Şekil 4.6'da verilmiştir.

Çalışma Prosedürü: 0,5 ml NIR-BH (10^{-5} M) + 0,25 ml katyon (10^{-5} M) + 2,25 ml EtOH (V_T: 3 ml)

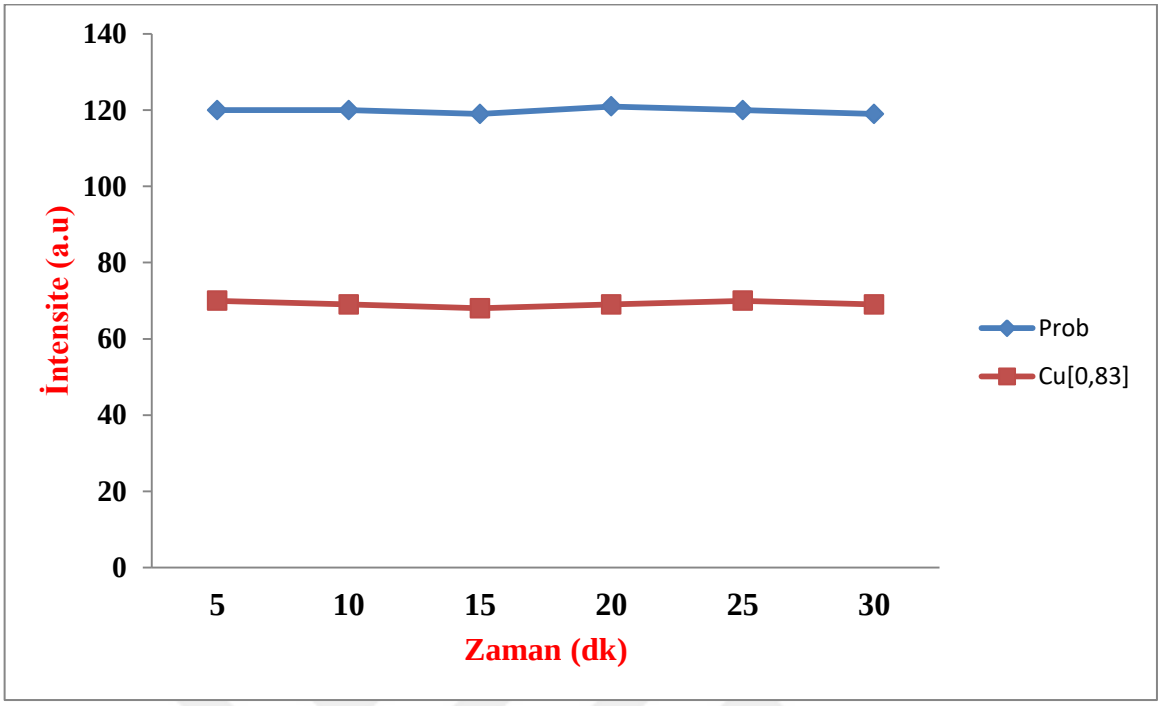


Şekil 4.6: λ_{em}=750 nm'de çeşitli metallere (10^{-5} M) karşı probun verdiği intensite değerleri (İnterferans; 1: Cu^{2+}, 2: Zn^{2+}, 3: Ni^{2+}, 4: Mn^{2+}, 5: Co^{2+}, 6: Fe^{2+}, 7: Na^{+}, 8: K^{+}, 9: Cd^{2+}, 10: Pb^{2+}) (Çalışma Prosedürü: 0,5 ml NIR-BH (10^{-5} M) + 0,25 ml katyon bileşikleri (10^{-5} M) + 2,25 ml EtOH V_T: 3 ml

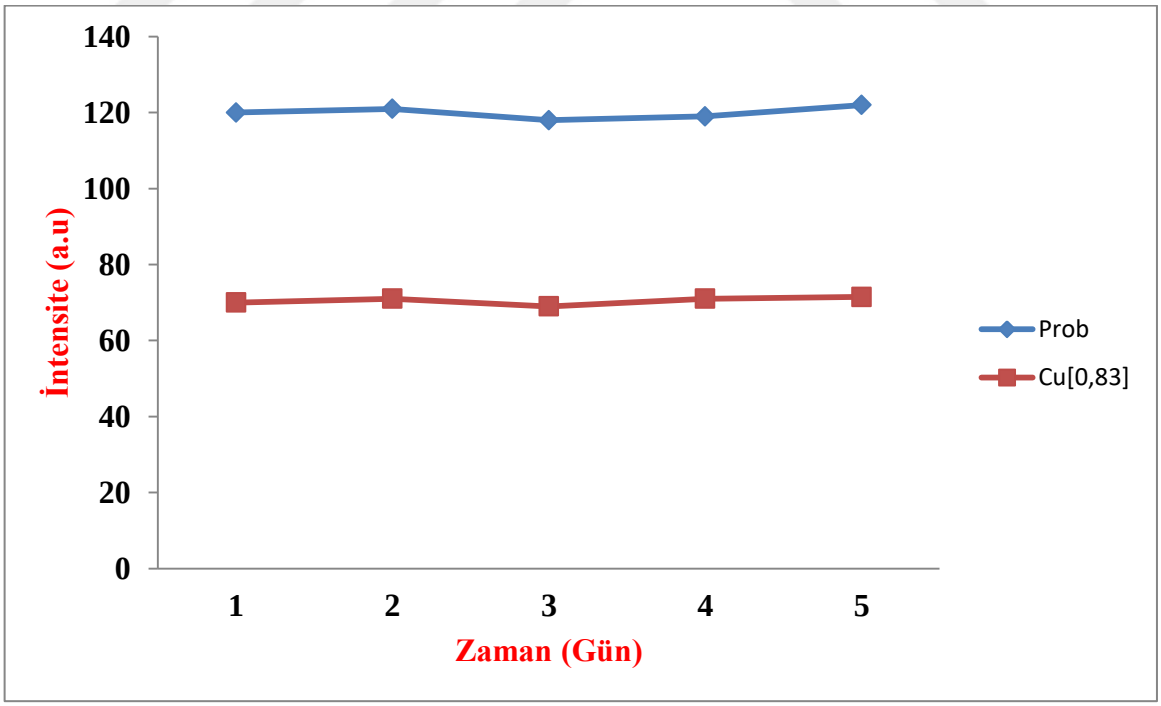
4.2.4. İnkübasyon Süresi

NIR-BH probu (10^{-5} M) ve NIR-BH + Cu^{2+} (0,83 µM) çözeltilerinin intensite değerleri (λ_{eks}=680 nm; λ_{em}=750 nm) 30 dk süresince izlenerek inkübasyon için optimal süre 1 dk olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7).

NIR-BH probu (10^{-5} M) ve NIR-BH + Cu^{2+} (0,83 µM) çözeltilerinin intensite değerleri (λ_{eks}=680 nm; λ_{em}=750 nm) 5 gün boyunca izlenmiştir (Şekil 4.8).

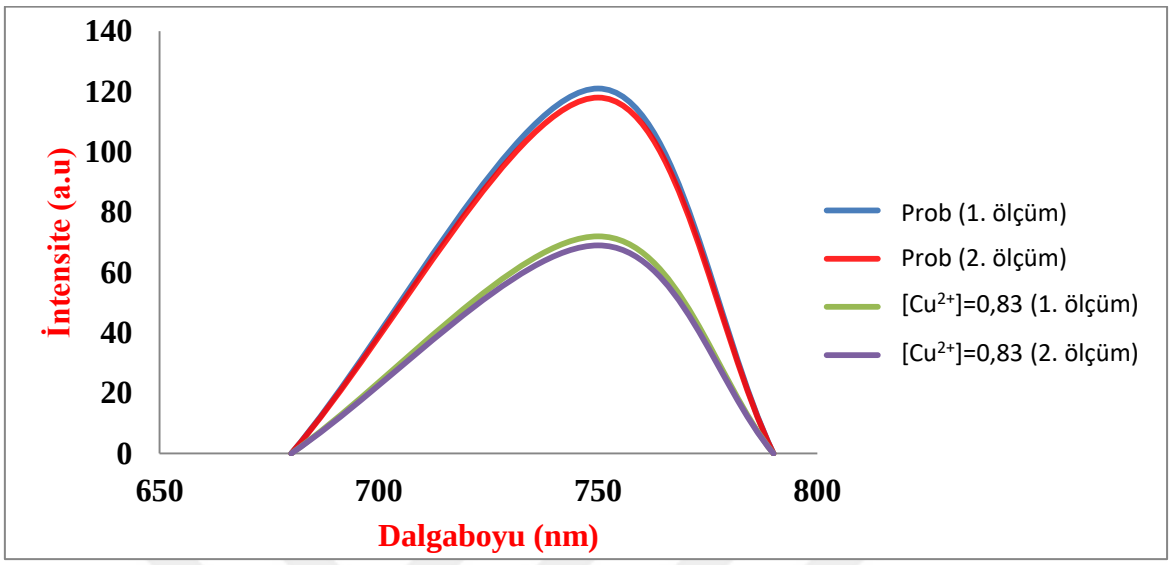


Şekil 4.7: NIR-BH probunun tek başına ve Cu^{2+} katkılı intensite değerlerinin (λ_{em}=750 nm) inkübasyon süresine bağlı olarak değişimi (30 dakika boyunca).



Şekil 4.8: NIR-BH probunun tek başına ve Cu^{2+} katkılı intensite değerlerinin (λ_{em}=750 nm) inkübasyon süresine bağlı olarak değişimi (Günlerarası).

4.2.5. Sıcaklık Etkisi



Şekil 4.9: 37 ºC'de 30 dakika boyunca bekletilmiş NIR-BH probunun ve Cu^{2+} çözeltilerinin intensite değerleri (Çözeltilerin 1. ölçümü yapılmış, 37 ºC'de 30 dakika boyunca bekletilmiş, sonrasında aynı çözeltilerle 2. ölçüm alınmıştır).

4.3. BAZI SU ÖRNEKLERİNDE BAKIR TAYİNİNİN FLOROMETRİK YÖNTEM VE REFERANS YÖNTEM İLE YAPILMASI

Referans yöntem olan ICP-MS yöntemiyle bazı su örneklerinin Cu^{2+} içeriklerini belirlemek için 324,25 nm dalgaboyunda ölçüm işlemi yapılmıştır. NIR esaslı florometrik yöntem, iki farklı su örneğine (içme suyu, sanayi atık suyu) uygulanarak her bir su örneğinin Cu^{2+} konsantrasyonu ölçülmüştür (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: NIR esaslı florometrik yöntem ve ICP-MS yöntemi ile bazı su örneklerinin Cu^{2+} içerikleri.

Çalışılan su örnekleri	Florometrik yöntem (ppm)	ICP-MS yöntemi (ppm)
İçme Suyu-1	1,14 ± 0,04	1,23 ± 0,03
İçme Suyu-2	1,28 ± 0,05	1,36 ± 0,06
Sanayi Atık Suyu-1	5,23± 0,03	5,30 ± 0,03
Sanayi Atık Suyu-2	5,15± 0,07	5,22± 0,07

Florometrik yöntem ve ICP-MS yöntemleri ANOVA testine göre karşılaştırılmıştır.
(P = 0.05 için $F_{deneysel}$ = 2,629, F_{kritik} (tablo) = 10,13, $F_{deneysel} < F_{kritik\ (tablo)}$)
Bulgular $\mu = \bar{x} \pm \frac{t_{.95} \cdot s}{\sqrt{N}}$ denklemine göre hesaplanmıştır (N=3, $t_{.95}$ = 4.303).

Çalışılan su örneklerine yapılan Cu^{2+} katkıları sonucunda NIR esaslı florometrik yöntemle elde edilen bulgular çerçevesinde geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirliği ve geri kazanımı incelenmiştir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Gerçek su numunelerine Cu^{2+} katkıları ile elde edilen sonuçlar (N=3).

İçme suyuna Cu^{2+} katkısı	$C_{katkı}$ (µM)	0,33
	$C_{deneysel}$ (µM)	0,35
	SD	0,01
	%RSD	2,77
	%Geri kazanım	106,07
	$C_{katkı}$ (µM)	0,50
	$C_{deneysel}$ (µM)	0,51
	SD	0,02
	%RSD	3,92
	%Geri kazanım	102,00
Sanayi atık suyuna Cu^{2+} katkısı	$C_{katkı}$ (µM)	0,50
	$C_{deneysel}$ (µM)	0,49
	SD	0,01
	%RSD	2,04
	%Geri kazanım	98,00
	$C_{katkı}$ (µM)	1,00
	$C_{deneysel}$ (µM)	1,07
	SD	0,04
	%RSD	3,74
	%Geri kazanım	107,00

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada geliştirilmiş olan yeni florojenik prob ve yöntem ile Cu^{2+} konsantrasyon tayini yapıldı. Tayini yapılacak olan bakırın konsantrasyonun 750 nm dalga boyundaki floresans intensitesi en yüksek verimin olduğu yer olarak tespit edildi. Çalışılan konsantrasyon düzeyi yüksek hassasiyet gerektirdiği için çalışmalara özen gösterildi.

Prob olarak, çalışma kapsamında ilk kez sentezlenen ve kısaca ismi NIR-BH olarak isimlendirilen bileşik kullanıldı. Yeni sentezlenen bu prob ile, 10^{-5} M'da çalışıldı. Floresans intensitesinin pH:6,5'ta görüntülenmiş ve en uygun pH değerinin 6,5 olduğu görülmüştür.

Bakırın tayini için geliştirilmiş olan bu yeni florojenik moleküler prob ve yöntem, probun intensite değerinin Cu(II) varlığında azalmasına dayanmaktadır. Bakır ile probun arasında öngörülmüş olan reaksiyon mekanizmasının (Şekil 3.4) gerçekleşmesi, intensite değeri 120 olan probun ve bakırın 10^{-5} M konsantrasyonun farklı miktarlarda azalmasına yöneliktir.

Sentezlenen NIR-BH bileşiğinin kapalı formülü $C_{34}H_{32}N_3O_3I$ şeklindedir. Teorik olarak hesaplanan molekül kütlesi 657.25 g/mol'dür.

Geliştirilen NIR esaslı florometrik yönteme göre LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0,026 ve 0,082 µM olarak hesaplanmıştır. (LOD=3 s_{bl}/m ve LOQ=10 s_{bl}/m; s_{bl}: blank (referans) çözeltisinin standart sapması, m ise kalibrasyon eğrisinin eğimidir). Lineer çalışma aralığı 0,33-1,20 µM şeklindedir.

Bazı katyonların (10^{-5} M) olası interferans etkileri Cu^{2+} ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.6'da verilmiştir. Şekil 4.6'da belirtildiği üzere, NIR-BH probunun floresans intensitesinin azalması yalnızca Cu^{2+}'nın varlığında görülmüştür. Bu da NIR-BH probunun sadece Cu^{2+}'ya selektif olduğunun göstergesidir.

NIR-BH'in stabilitesinin tayini için 37 ºC'de 30 dakika bekletilen prob ve prob+Cu içerikli numunelerin, sıcaklıktaki bekletilmesinin ardından yapılan ölçümlerde de bir değişiklik görülmemiş ve bu da ifade edilen sıcaklıkta probun stabilitesinin bozulmadığını göstermiştir.

Yine stabilite için, hem sadece probun içinde yer aldığı numunenin hem de prob+Cu'nun içinde yer aldığı numune için günler arası aynı saatte intensite ölçümü spektroflorometrik olarak yapılmış, yapılan bu ölçümler neticesinde intensitede hiçbir değişim olmadığı saptanmıştır. Bu durum da probun stabilitesinin hem günlerarası hem de 30 dakikalık bir süreçte dahi bozulmadığını göstermiştir. Gün içi tekrarlanabilirlik değerlerinde %RSD sonuçları prob ve Cu^{2+} için sırasıyla 1,25 ve 2,17; günlerarası tekrarlanabilirlik değerlerinde ise %RSD sonuçları 2,63 ve 3.53 olarak bulunmuştur.

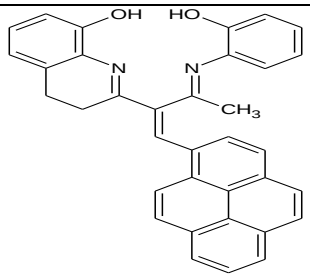
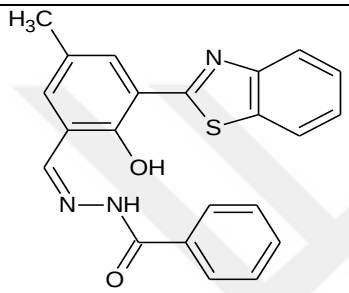
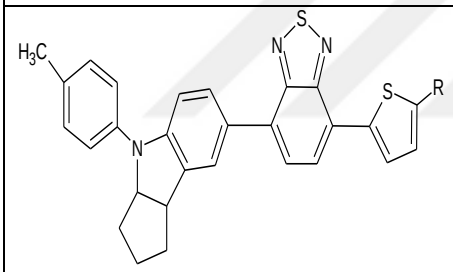
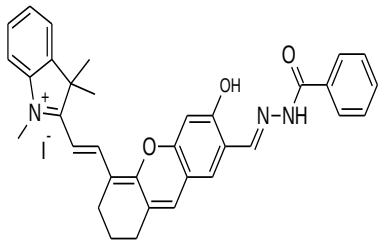
Geliştirilen yöntemin prezisyonu ve geri kazanımı için çeşitli su numunelerine iki farklı konsantrasyon değerinde Cu^{2+} standart katkısı yapılıp elde edilen bulgular Tablo 4.3'te özetlenmiştir. Bu yeni florometrik yöntemin prezisyonu; test edilen konsantrasyon aralığında intensite ölçümünde %RSD (bağıl standart sapma) olarak ifade edilmektedir ve içme suyu örnekleri için yaklaşık olarak % 2,77 iken sanayi suyu için % 2,04 olarak saptanmıştır. Öte yandan, yeni geliştirilen florometrik yöntemin % geri kazanımı içme suyu örneği için 102,01-106,07 ve sanayi atık suyu örneği için ise 98,00-107,00 aralığındadır.

Gerçek su örnekleri olarak kullanılan içme suyu ve sanayi atık suyu örneklerindeki Cu^{2+} tayininde referans yöntem olarak (324,25 nm dalgaboyu) kullanılmıştır.

İçme suyu ve sanayi atık suyu örnekleri için işlemler (NIR esaslı florometrik ve ICP yöntemlerine göre su numunelerinin Cu^{2+} değerleri, Tablo 4.2'de verilmiştir) ve artıkların karelerinin ortalamalarını içeren F-testinin uygulandığı iki yönlü varyans analizi (ANOVA) mukayesesi neticesinde anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. Buna ilaveten, NIR esaslı florometrik yöntem ile ICP-MS yönteminden elde edilen sonuçlar, %95 güvenirlik düzeyinde benzerlik göstermektedir (Su örnekleri; P=0,05 için $F_{deneysel}$=2,629, $F_{kritik\ (tablo)}$=10,13, $F_{deneysel}$< $F_{kritik\ (tablo)}$). Buna bağlı olarak, tez kapsamında geliştirilen yeni florometrik yöntem, ICP-MS referans yöntemine karşı valide edilmiştir.

Literatürde bulunan bazı bakır problarının LOD değerleri, NIR-BH probu ile Tablo 5.1'de karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Yeni sentezlenen florojenik probun LOD değerini literatürde yer alan bazı problara göre daha düşük değerde olduğu belirlenmiştir.

Tablo 5.1: Literatürde yer alan Cu^{2+} tayininde kullanılan bazı probların LOD değerleri

Probun Molekül Formülü	**LOD (µM)**	**Referans**
	2,91	[37]
	17	[41]
	1,03	[42]
	0,026	Bu tez kapsamında.

Sonuç olarak, bakırın farklı konsantrasyonlarına göre alınan ölçümler sonucu intensite, çözeltideki bakır miktarının artışına göre sönümlenme gözlemlenmiş; diğer metal atomlarının çözeltideki varlığında dahi sadece bakıra cevap vermiştir. Bu da probun bakıra seçici özellikte olduğunu göstermiştir.

Bu tez çalışması neticesinde bakır tayini için floresans bazlı ve yakın infrared bölgede eksitasyon-emisyon özelliğine sahip yeni bir prob ve spektroflorometrik bir yöntem geliştirilmiş oldu. Gerçek numune üzerine yapılan analizler diğer analitik uygulama (ICP-MS) ile doğrulanmış ve başarılı bir sonuç elde edilmiş oldu. Sentezlenen probun yapı karakterizasyonu ^{1}H-NMR, HRMS ile detaylı bir biçimde sağlanmıştır. Netice itibariyle şimdiye değin literatürde çok az sayıda olan near infrared bölgede emisyon özelliğine sahip olan problar arasına Cu^{2+}'ya duyarlı ve selektif olan, kolay uygulanabilir, analiz sonuçlarının doğru ve güvenilir bir biçimde alınmasına imkan sağlayan yeni bir Cu^{2+} probu ve yeni bir tayin yöntemi geliştirilmiş oldu.

KAYNAKLAR

[1]. Dollwet, H., Sorenson, J., 1985, Historicuses of copper compounds in medicine, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2, 80-87.

[2]. Linder, M.C., Azam, M.H., 1996, Copper biochemistry and molecular biology, Am. J. Clin. Nutr. 63, 797S-811S.

[3]. Gaetke, L.M., Chow, C.K., 2003, Copper Toxicity, oxidative stress and antioxidant nutrients, Toxicology, 189, 147-163.

[4]. Hung, Y.H., Bush, A.I., Cherny, R.A., 2010, Copper in the brain and Alzheimer's disease, J. Biol. Inorg. Chem. 15, 61-76.

[5]. Yang, M., Yu, Y., Shen, F., Dierks, K., Fang, W., Li, Q., 2010, Detection of Copper Ion with Laser-Induced Fluorescence in a Capillary Electrophoresis Microchip, Analytical Letters, 43, 2883-2891.

[6]. Szpunar, J., Bettmer, J., Robert, M., Chassaigne, H., Cammann, K., Lobinski, R., Donard F. X., 1997, Validation of the determination of copper and zinc in blood plasma and urine by ICP MS with cross-flow and direct injection nebulization, Talanta, 44, 1389-1396.

[7]. Gebauer M. G., McClure A. F., Vlahakis T. L., 2001, Stability indicating HPLC method for the estimation of oxycodone and lidocaine in rectal gel, Int. J. Pharm., 223, 49-54.

[8]. Wang J., Zong, Q., 2015, A new turn-on fluorescent probe for the detection of copper ion in neat aqueous solution, Sens. Actuators B, 216, 572-577.

[9]. Tonzetich, Z.J., McQuade, L.E., Lippard, S.J., 2010, Detecting and understanding the role of nitric oxide in biology, Inorg. Chem., 49, 6338-6348.

[10]. Terai,T., Tetsuo, N., 2008, Fluorescent probes for bioimaging applications, Curr. Opin. Chem. Biol., 12, 515-521.

[11]. Drummen, G.P.C., 2012, Fluorescent Probes and Fluorescence (Microscopy) Techniques Illuminating Biological and Biomedical Research, Molecules, 17, 14067-14090.

[12]. Wainwright, M., 2009, Photosensitisers in Biomedicine, John Wiley & Sons., Chichester, ISBN: 978–0–470–510060–5.

[13]. Chalfie, M.G., 2009, Lighting up Life (Nobel Lecture), Angewandte Chemie International Edition, 48, 5603–5611.

[14]. Kubodera, T., Koyama, Y., Mori, K., 2007, Observations of Wild Hunting Behaviour and Bioluminescence of a Large Deep-Sea, Eight-Armed Squid, Taningia Danae, Proceedings of The Royal Society B: Biological Sciences, 274, 1029–1034.

[15]. Chapman, G.N., Walton, A.J., 1983, Triboluminescence of Glasses and Quartz, Journal of Applied Physics, 54, 5961–5965.

[16]. Tsuboi, Y., Seto, T. ve Kitamura, N., 2008, Laser-Induced Shock Wave can Spark Riboluminescence of Amorphous Sugars, The Journal of Physical Chemistry A, 112, 6517–6521.

[17]. Braslavsky, S.E., 2007, Glossary of Terms used in Photochemistry, 3rd edit ion (IUPAC Recommendations), Pure and Applied Chemistry, 79, 293–465.

[18]. Boens, N., Leen, V. ve Dehaen, W., 2012, Fluorescent Indicators based on BODIPY, Chemical Society Reviews, 41, 1130-1172.

[19]. Li, X.H., Gao, X.H., Shi, W., Ma, H.M., 2014, Design Strategies for Water-Soluble Small Molecular Chromogenic and Fluorogenic Probes, Chemical Reviews, 114, 590-659.

[20]. Valeur B., 2001, Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Wiley-VCH Verlag GmbH, Singapore, ISBN: 3–527–60024–8.

[21]. Sauer, M., Hofkens, J., Enderlein, J., 2011, Basic Principles of Fluorescence Spectroscopy, Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Imaging: From Single Molecules to Ensembles, Wiley-VCH Verlag GmbH, 1-30.

[22]. Kamari, A., Najiah, S., Yusoff, M., Abdullah, F., Pranata, W., 2014, Journal of Environmental Chemical Engineering Biosorptive removal of Cu(II), Ni(II) and Pb(II) ions from aqueous solutions using coconut dregs residue :Adsorption and characterisation studies, Biochem. Pharmacol., vol. 2, no.4, 1912–1919.

[23]. Awual, M. R., Rahman, I. M. M., Yaita, T., Khaleque, M. A., Ferdows, M., 2014, pH dependent Cu(II) and Pd(II) ions detection and removal from aqueous media by an efficient mesoporous adsorbent, Chem. Eng. J., vol. 236, 100–109.

[24]. Ding, N., Zhao, H., Peng, W., He, Y., Zhou, Y., Yuan, L., Zhang, Y., 2012, A simple colorimetric sensor based on anti-aggregation of gold nanoparticles for Hg^{2+} detection, Colloid and Surfaces A, 395, 161–167.

[25]. Kwon, J.Y., Jang, Y.J., Lee, Y.J., Kim, K.M., Seo, M.S., Nam, W., Yoon, J., 2005, A highly selective fluorescent chemosensor for Pb^{2+}, J. Am. Chem. Soc., 127, 10107–10111.

[26]. Yuan, L., Lin, W., Cao, Z., Long, L., Song, J., 2011, Photocontrollable analyte-responsive fluorescent probes: a photocaged copper-responsive fluorescence turn-on probe, Chem. Eur. J., 17, 689-696.

[27]. Wang, B.L., Jiang, C., Li, K., Liu, Y.H., Xie, Y., Yu, X.Q., 2015, Molecular engineering of a dual emission near-infrared ratiometric fluorophore for the detection of pH at the organism level, Analyst, 140, 4608-4615.

[28]. 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.

[29]. Chen, H., Lin, W., Cui, H., Jiang, W., 2015, Development of uniqe xanthene-cyanine fused near-infrared fluorescent fluorophores with superior chemical stability for biological fluorescence imaging, Chem. Eur. J., 21, 733-745.

[30]. Escobedo, J.O., Rusin, O., Lim, S., Strongin, R.M., 2010, NIR dyes for bioimaging applications, Curr. Opin. Chem. Biol., 14, 64-70.

[31]. Han, J., Burgess, K., 2010, Fluorescent indicators for intracellular pH, Chem. Rev., 110, 2709-2728.

[32]. Wang, B.L., Jiang, C., Li, K., Liu, Y.H., Xie, Y., Yu, X.Q., 2015, Molecular engineering of a dual emission near-infrared ratiometric fluorophore for the detection of pH at the organism level, Analyst, 140, 4608-4614.

[33]. Shi, C., Wu, J.B., Pan, D., 2016, Review on near-infrared heptamethine cyanine dyes as theranostic agents for tumor imaging, targeting and photodynamic therapy, J. Biomed. Opt., 21, 050901-1.

[34]. Chen, H., Lin, W., Cui, H., Jiang, W., 2015, Development of uniqe xanthene-cyanine fused near-infrared fluorescent fluorophores with superior chemical stability for biological fluorescence imaging, Chem. Eur. J., 21, 733-744.

[35]. Yang, X., Shi, C., Tong, R., Qian, W., Zhau, H.E., Whang, R., Zhu, G., Cheng, J., Yang, V.W., Cheng, T., Henary, M., Strekowski, L., Chung, L.W.K., 2010, Near IR heptamethine cyanine dye-mediated cancer imaging, Clin. Cancer Res., 16, 2833-2844.

[36]. Wang, X., Lv, J., Yao, X., Li, Y., Huang, F., Li, M., Yang, J., Ruan, X., Tang, B., 2014, Screening and investigation of a cyanine fluorescent probe for simultaneous sensing of glutathione and cysteine under single excitation, Chem. Commun., 50, 15439-15442.

[37]. Goswami, S., Chakraborty, S., Paul, S., Halder, S., Panja, S., Kanti, S., 2014, A new pyrene based highly sensitive fluorescence probe for copper(II) and fluoride with living cell Application, Organic & Biomolecular Chemistry, 12, 2981–3138.

[38]. Yang, T., Zhu, F., Zhou T., Cao, J., Xie, Y., Zhang, M., Wang, Y., Cao, D., Lin ,Q., Zhang, L., 2017, Label-free, Water-soluble Fluorescent Peptide Probe for a Sensitive and Selective Determination of Copper Ions, Analytical Sciences, 33, 191-196.

[39]. Xu, Z., Wang, H., Chen, Z., Jiang, H., Ge, Y., 2019, Near-infrared fluorescent probe for selective detection of Cu^{2+} in living cells and in Vivo, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 216, 404-410.

[40]. Cindric, M., Bjelopetrovic, A., Pavlovic, G., Damjanovic, V., Lovric, J., Matkovic-Calogovic, D., Vrdoljak, V. 2017, Copper(II) complexes with benzhydrazone-related ligands: synthesis, structural studies and cytotoxicity assay, New J.Chem., 41, 2425-2435.

[41]. Shen, Y., Zhang, X., Zhang, C., Zhang, Y., Jin, J., Li, H., 2018, A simple fluorescent probe for the fast sequential detection of copper and biothiols based on a benzothiazole derivative, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 191, 427–434.

[42]. Wu, X., Guo, Z., Wu, Y., Zhu, S., James, T., Zhu, W., 2013, Near–Infrared colorimetric and fluorescent Cu^{2+} sensors based on Indoline–benzothiadiazole derivatives via formation of radical cations, American Chemical Society, 5, 12215–12220.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Muhammed Emin AKBULUT
Doğum Yeri	GÜNGÖREN
Doğum Tarihi	26.04.1991
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
Telefon	05443883618
E-Posta Adresi	akb1525@gmail.com
Web Adresi	-

Eğitim Bilgileri Lisans	
Üniversite	Sakarya ÜNİVERSİTESİ
Fakülte	Fen-Edebiyat FAKÜLTESİ
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	2013

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Analitik Kimya