

Atf İçin: Beşer, B M, 2022. Floresans Enerji Transferi Üzerine Grafen Oksitin Kuençleştirici Etkisinin İncelenmesi. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12(2): 870-881.

To Cite: Beşer, B M, 2022. Investigation of the Quenching Effect of Graphene Oxide on Fluorescence Energy Transfer. Journal of the Institute of Science Technology, 12(2): 870-881.

Floresans Enerji Transferi Üzerine Grafen Oksitin Kuençleştirici Etkisinin İncelenmesi

Burcu Meryem BEŞER^{1*}

ÖZET: Pirazolin türevi iki izomer molekül (4.2 ve 2.2) için sodyum dodesil sülfat misel ortamında seçilen dört farklı floresans proba (Safranin T, Akridin O, Pyronin Y, Floresin) gerçekleştirilen floresans enerji transferine bir floresans sönmüleyici olduğu bilinen grafen oksitin kuençleştirici etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışma durgun hal floresans spektroskopisi tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Enerji transferi ile ilgili parametreler Förster kinetiğine, kuençleşme ile ilgili parametreler ise Stern-Volmer kinetiğine göre belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda donör-akseptör çiftleri arasındaki floresans enerji transferinin GO tarafından zayıflatıldığı fakat tamamen sonlanmadığı ve düşük oranda devam ettiği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Floresans enerji transferi, grafen oksit, kuençleşme, pirazolin, Stern-Volmer

Investigation of the Quenching Effect of Graphene Oxide on Fluorescence Energy Transfer

ABSTRACT: The quenching effect of GO on the fluorescence energy transfer between two pyrazoline-derived isomer molecules (4,2 and 2,2) (donor) and four different acceptor molecules (Safranin T, Acridine O, Pyronin Y, Fluorescein) were investigated in sodium dodecyl sulfate micellar media. The study was carried out using the steady state fluorescence spectroscopy technique. Parameters related to energy transfer were determined according to Förster kinetics, and parameters related to quenching were determined according to Stern-Volmer kinetics. As a result of the study, it was understood that the fluorescence energy transfer between donor-acceptor pairs was weakened by GO, but not completely terminated and continued at a low rate.

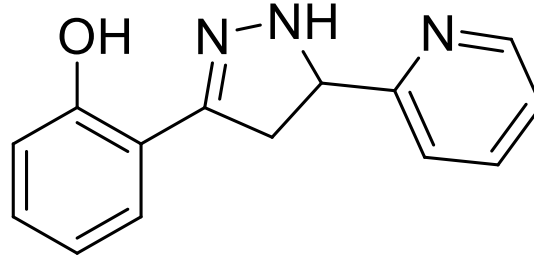
Keywords: Fluorescence energy transfer, graphene oxide, quenching, pyrazoline, Stern-Volmer

¹Burcu Meryem BEŞER ([Orcid ID: 0000-0001-9174-0589](https://orcid.org/0000-0001-9174-0589)), Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Erzincan, Türkiye

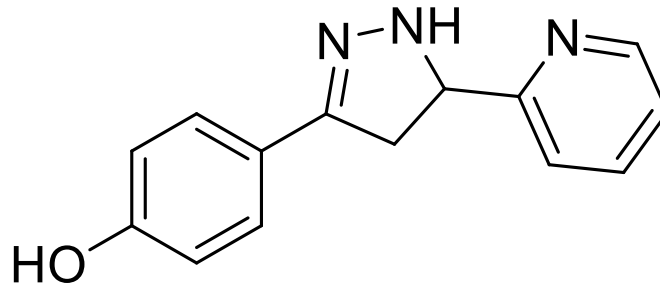
*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Burcu Meryem BEŞER, e-mail: baydin@erzincan.edu.tr

GİRİŞ

Kalkonlar, flavonoid ailesine üye, α , β doymamış ketonlar olarak bilinirler ve kimyasal olarak üç karbonlu bir α , β doymamış karbonil yapıyla birbirine bağlanmış olan iki aromatik halkadan (1,3-diaril-2-propen-1-on iskeleti) meydana gelirler. Azakalkonlardan sentezlenen pirazolinler heterosiklik halkada iki azot atomu içeren, 300-400 nm aralığındaki ışığı absorplayabilen, hem katı halde hem de çözeltide güçlü floresans özellik gösteren moleküllerdir ve floresans prob olarak kullanılırlar (Nee Pant ve ark., 2011). Yüksek floresans karakterlerinden dolayı da elektrolüminesans ve elektro fotoğraflama tekniklerinde kemosensör olarak kullanılırlar (Ramkumar ve Kannan, 2015). Birçok pirazolin bileşiği antimikrobiyal, antifungal, antidepresan, antikonsültant, antibakteriyel, antihelminetik, antiülser, antiviral, antiprotozoal, antikanser olarak biyolojik aktiviteye sahiptir (Perdana ve ark., 2015). Ayrıca son yıllarda anestezi, analjezik, antiinflamatuvar ve antidiyabetik farmasotik amaçlı sentezleri giderek artmaktadır (Sarkar ve Bhattacharya, 2012). Pirazolin türevi bileşikler yüksek kuantum verimleri ve uzun floresans ömürleri ile önemli organik floresans moleküllerdir (Mishra ve ark., 2017). Bu çalışmada pirazolin türevi iki izomer molekül kullanılacaktır ve bu moleküller Şekil 1.1, Şekil 1.2’de verilmiştir.

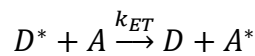


Şekil 1. 2-(5-(pyridin-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)phenol (2,2)



Şekil 2. 4-(5-(pyridin-2-yl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)phenol (4,2)

Floresans rezonans enerji transferi (FRET) biyolojik sistemlerdeki uygulamalarda da floresan spektroskopisinde de temel bir olgudur (Lakowicz, 2006). Floresans enerji transferi çalışmaları, protein katlanma olaylarını araştırmak ve proteinlerin yapısal ve konformasyonel özelliklerini belirlemek için floresan etiketler arasındaki mesafeleri incelemek için yaygındır (Ju Youn ve ark., 1995). FRET, aşağıdaki denklem ile tanımlanabilir:



burada D^* uyarılmış bir verici (donör) molekül ve A temel haldeki bir alıcı (akseptör) moleküldür. k_{ET} ise vericiden alıcıya gerçekleşecek olan enerji transferinin hız sabitidir.

Enerji transfer olaylarını inceleme çalışmaları farklı amaçlı enerji dönüştürme proseslerinde, boya lazerlerde belli dalga boyunda en iyi cevabı verecek boyar madde karışımların belirlenmesinde (De ve

ark., 2005) ve özellikle biyokimya alanında hız kazanmıştır (Aydin ve ark., 2009). Biyokimyada enerji transferi; proteinlerin yarıçapları, biyolojik membran kalınlığı, proteinlerdeki kromoforik gruplar arasındaki mesafenin belirlenmesi gibi farklı amaçlar için kullanılabilir (Kalyanasundaram ve Thomas, 1977; García ve Carnero, 1996; Bozkurt, 2018).

Misel sistemleri ise genellikle biyolojik uygulamalar için model membran sistemleri olarak kabul edildiğinden, misel çözeltilerindeki boya molekülleri arasındaki FRET işlemi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Verkman, 1987; Qi ve ark., 2007). Misel ortam molekülleri elektrostatik etkileşim ile birbirine yeterince yaklaştırarak donör-akseptör (verici-alıcı moleküller) arasındaki enerji transferinin gerçekleşme ihtimaliyetini artırır. Misel ortamında seçilen donör (2,2 ve 4,2) ile akseptör (Pyronin Y, Floresin, Safranin T ve Akridin O) arasındaki FRET'in anlaşılması spektroskopik uygulamalar için önemlidir. Akseptör moleküllerin seçiminde donör ile spektral alanların örtüşmesi dikkate alınmıştır.

Grafen oksit (GO) grafitin güçlü oksidasyonu ile sentezlenen, ucuz ve bol miktarda elde edilen, tek atomik katmanlı bir materyal olup grafenin oksijen içeren gruplar ile bağlanmış, oksitlenmiş bir formudur (Yazıcı ve ark., 2016; Nan ve ark., 2019; Cimilli Çatır, 2020). GO'nin kuenceleştirici etkisi Beşer tarafından yapılan önceki bir çalışmada ve farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Šimšiková, 2016; Korkmaz ve ark., 2021). Bu çalışmada ise pirazolin türevi iki izomer molekülün SDS ortamında seçilen uygun problemlerle aralarında gerçekleşen enerji transferine GO'nin kuenceleştirici etkisi incelenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Kullanılacak Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılacak olan boyar maddeler (problemler) Floresin (Fl), Pyronin Y (PyY), Akridin Oranj (AcO), Safranin T (SfT), surfaktant olarak kullanılacak olan Sodyum Dodesil Sülfat (SDS), referans bileşikler olarak kullanılan Triptofan, Kinin Sülfat, 2-Amino Pyridine Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çalışmanın donör molekülleri olan pirazolin türevleri (2,2 ve 4,2) ise Prof. Dr. Ahmet YAŞAR tarafından sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Grafen Oksit (GO) ise grafitten çıkılarak Modifiye Hummers Metoduna göre sentezlenmiştir (Zaaba ve ark., 2017).

Numunelerin Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılacak olan boyar maddeler olan Fl, PyY, AcO ve SfT'nin 1.0×10^{-3} M stok çözeltisi numune hazırlamayı kolaylaştırmak amacıyla önceden hazırlanmıştır. Çalışma konsantrasyon aralığının belirlenmesi için ön konsantrasyon çalışması yapıldıktan sonra aralık belirlenmiştir. SDS'nin kritik misel konsantrasyonu 8.1 mM'dır (Aydin ve ark. 2009). Çalışmadaki SDS konsantrasyonu kritik misel konsantrasyonunun sağlanmış olması amacıyla 8.5 mM olarak belirlenmiştir. Her bir numunenin hazırlanması için 1.0×10^{-4} M donör (2,2 veya 4,2) molekülü argon gazı ile kurutulmuş üzerine artan konsantrasyonlarda akseptör boya çözeltileri otomatik pipetler yardımıyla eklenmiştir. Sonrasında hazırlanan SDS çözeltisi eklenerek toplam hacim 4.0 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan numuneler her ölçüm öncesi ultrasonik banyoda 15 dk bekletilmiştir. Daha sonrasında her bir numune için floresans ölçümleri alınmıştır. Ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. $50 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ lik Grafen Oksit (GO) dispersiyonundan her bir numuneye 100 μL eklenerek ölçümler yapılmıştır.

Enerji Transferi ve Kuenceleşme Parametrelerinin Belirlenmesi

Çalışmanın temelini oluşturan enerji transferi, dinamik kuenceleşme için geliştirilen ve enerji transfer etkinliği hakkında bilgi veren Stern-Volmer modeli ve Förster kinetiğine göre tartışılacaktır. Stern-Volmer modeli, R^* (donör) ve Q (akseptör) moleküllerinin rastgele difüzyon hareketleri sırasında birbirini ile temasını esas almaktadır (Steiner 1984). Bu tür kuenceleşme durumunda reaksiyon çarpışma ihtimaliyle orantılıdır. Dinamik ve statik kuenceleşme için Stern-Volmer eşitliği;

$$\frac{I_0}{I} = \frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau [Q] = 1 + K_{SV} [Q] \quad (1)$$

Burada; F_0 (I_0) ve F (I) sırasıyla ortamda kuençırın bulunmadığı ve bulunduğu andaki floresans şiddetleri; k_q , bimoleküler kuençleşme sabiti; τ , kuençırın ortamda olmadığı andaki floroforun uyarılmış halde harcadığı zaman veya florofor'un floresans ömrü; $[Q]$, kuençır konsantrasyonu; $K_{SV} = k_q \cdot \tau$ olup Stern-Volmer sabitini temsil etmektedir. K_{SV} 'nin alacağı değer enerji transferinin etkinliği hakkında bilgi vermesi açısından önemlidir (Steiner, 1984).

Enerji transfer parametreleri Förster kinetiğine göre belirlenmiştir. Enerji transferinin önemli parametrelerinden olan enerji transfer verimliliği (E) enerji transferinin gerçekleşme yüzdesini temsil etmektedir. Enerji transfer verimliliği aşağıdaki eşitliklerle belirlenebilir.

$$E = 1 - \frac{\tau_{DA}}{\tau_D} = 1 - \frac{I_{DA}}{I_D} \quad (2)$$

Burada τ_D , akseptör molekülünün ortamda bulunmadığı şartlarda donörün floresans ömrünü, τ_{DA} ise akseptörün ortamda bulunduğu şartlardaki donörün floresans ömrünü ifade etmektedir. I_{DA} ve I_D , akseptörün ortamda bulunduğu ve bulunmadığı şartlardaki donörün floresans şiddetini ifade eder.

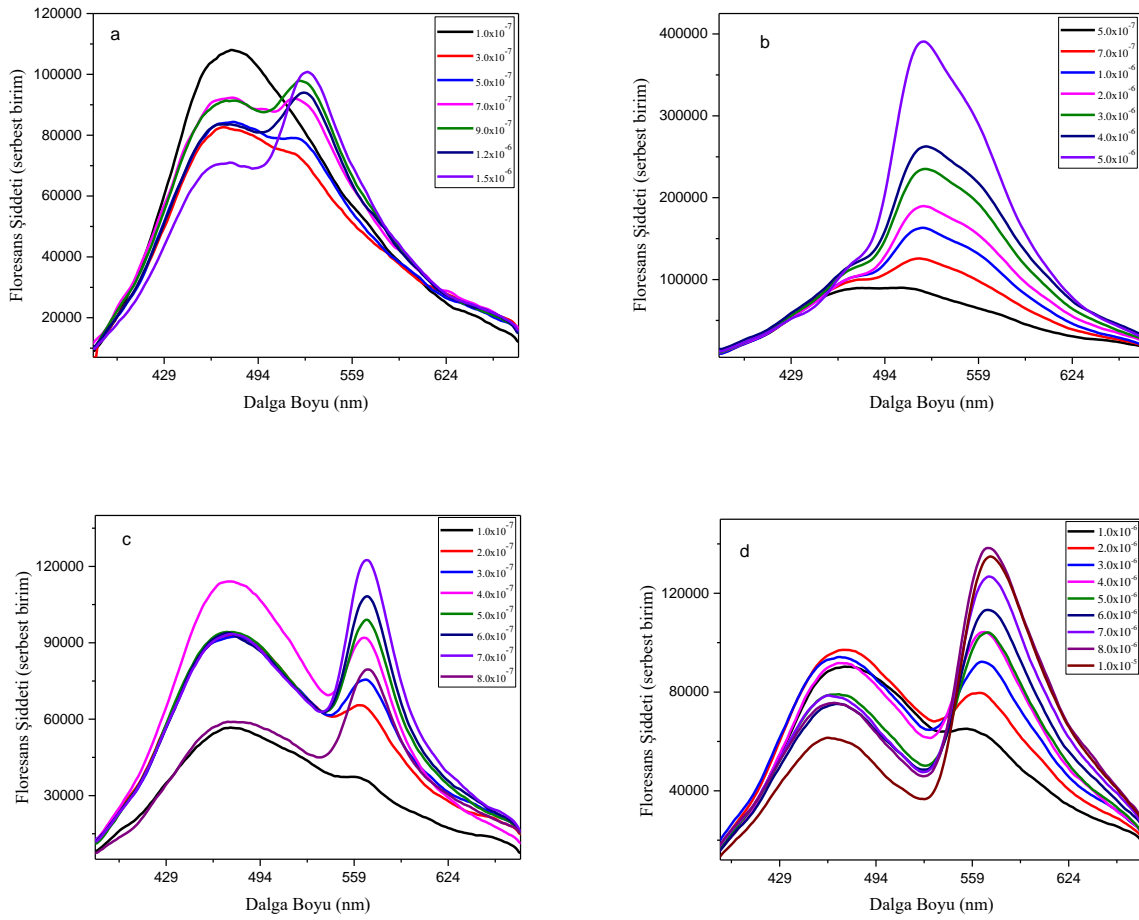
Meydana gelen etkileşimleri incelemek için önemli bir yöntem de kuençırların florofor gruplarına erişilebilirliğidir. K ; bağlanma sabiti ve n ; bağlanma yeri sayısı, formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$\log \frac{(F_0 - F)}{F} = \log K + n \log [Q] \quad (3)$$

Burada $\log (F_0 - F/F)$ ya karşı çizilen $\log [Q]$ grafiğinin eğiminden bağlanma yeri sayısı n ve kesim noktasından da K bağlanma sabiti hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

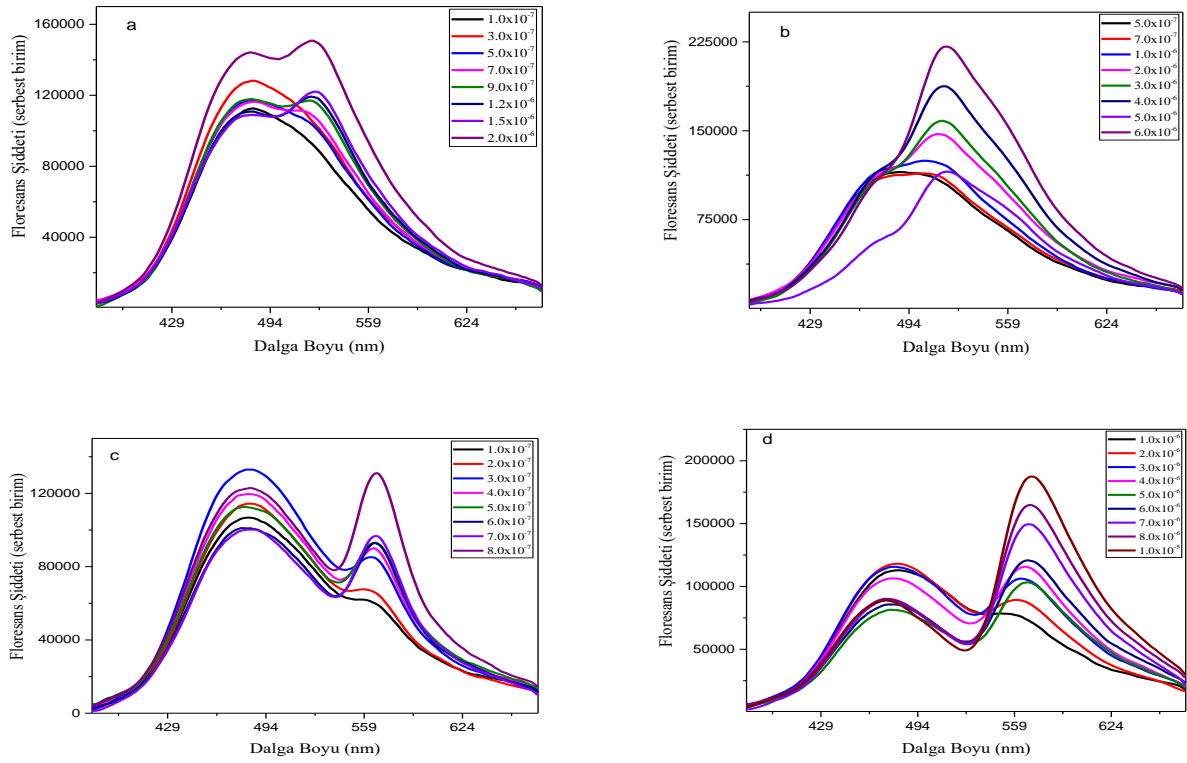
Çalışmada SDS misel ortamında donör moleküllerin (2,2 ve 4,2) konsantrasyonu sabit tutularak akseptör olarak seçilen moleküller (AcO, PyY, Fl, SfT) için konsantrasyon belirli oranda artırılmıştır ve her bir numune içine 50 mg.ml⁻¹'lik dispersiyondan 100 µL GO eklenmiştir. İlave sonrası tüm numuneler ultrasonik banyoda 15 dk bekletilmiştir. Ardından tüm numunelerin durgun hal floresans ölçümleri alınmıştır. Elde edilen floresans spektrumları 2,2 molekülü için şekil 3'de, 4,2 molekülü için şekil 4'de verilmiştir. Hem şekil 3'de hem de şekil 4'de donör ve seçilen akseptör molekülleri arasında enerji transferinin GO varlığına rağmen gerçekleştiği görülmektedir.



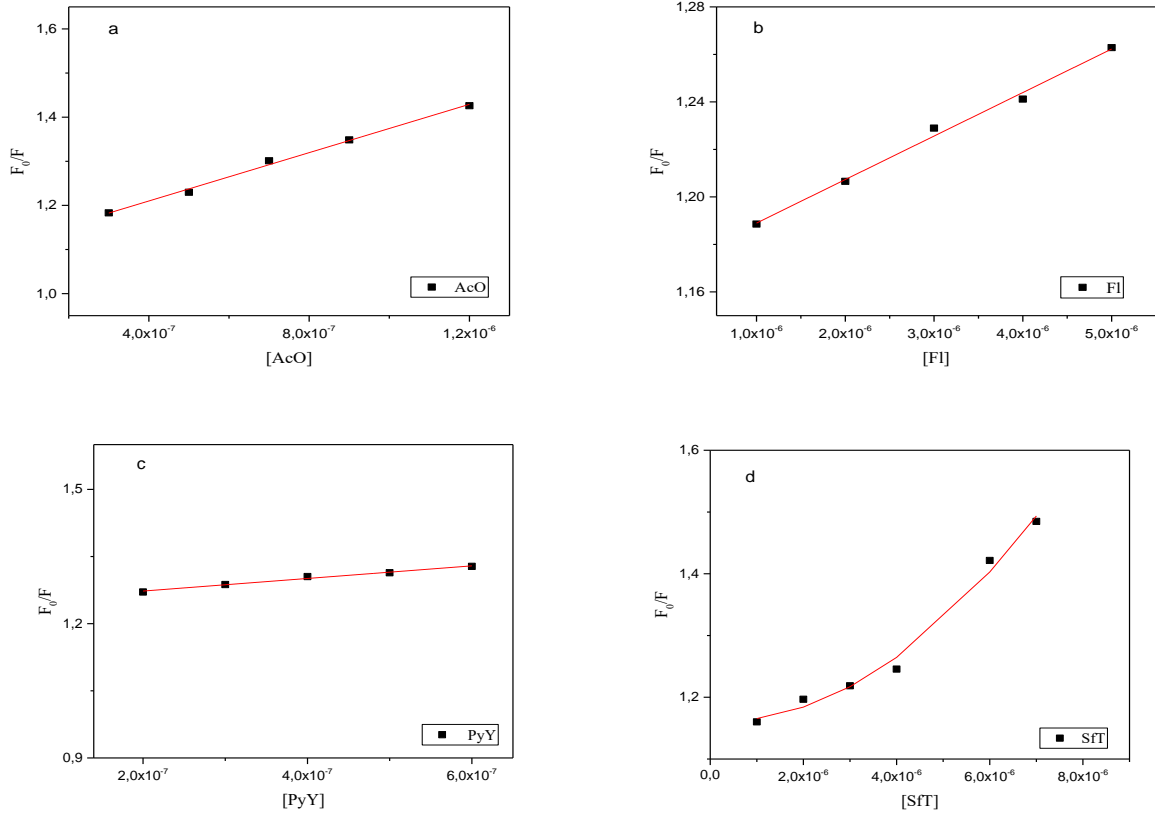
Şekil 3. GO varlığında 2,2 donör molekülü ile sırasıyla a) AcO, b) Fl, c) PyY ve d) SFT akseptörleri arasındaki FRET'i gösteren durgun hal floresans spektrumları

Elde edilen floresans spektrumları donör (2,2 ve 4,2) ile seçilen akseptör molekülleri (AcO, Fl, PyY, SFT) arasında enerji transferini açıkça göstermektedir. Her bir ortama 100 μ l GO ilave edilmiş olmasına rağmen SDS ortamının, donör ile akseptör molekülleri arasındaki enerji transferi için gerekli mesafeyi sağladığı, dolayısıyla floresans enerji transferinin gerçekleştiği anlaşılmaktadır (Aydın ve ark., 2009). Bir çözeltinin konsantrasyonu değişse de ışık absorpsiyonunun değişmediği, sabit kaldığı dalga boyuna izobestik nokta adı verilir (He ve ark., 2020). Şekil 3d ve şekil 4d'de SFT molekülünün akseptör olduğu durumda her iki donör molekül için de izobestik noktanın varlığı görülmektedir. 2,2 molekülü için izobestik nokta 547 nm'de, 4,2 molekülü için ise 543 nm'de gözlenmiştir.

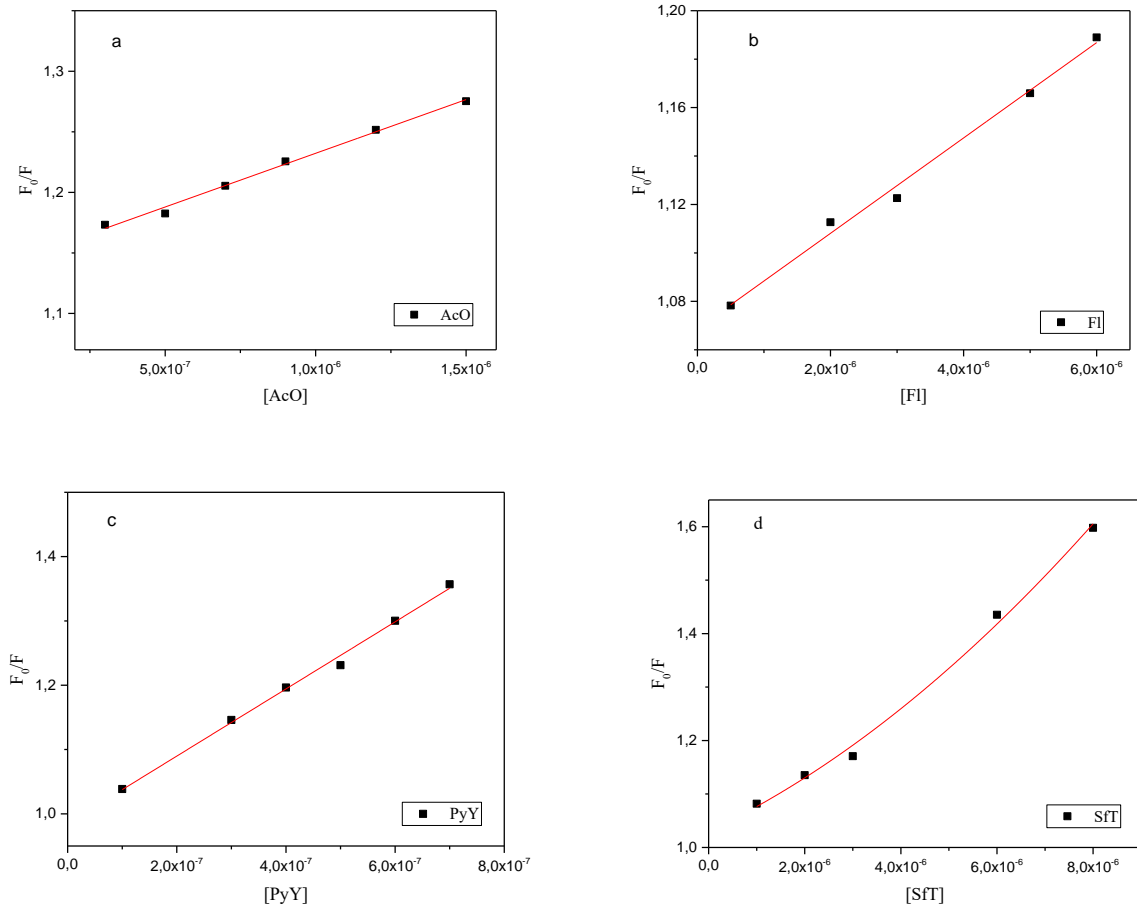
Floresans spektrumlarından elde edilen verilerden F_0 ve F değerleri hesaplanarak GO konsantrasyonuna karşı Stern-Volmer grafikleri oluşturulmuştur (Vera-López ve ark., 2018). Elde edilen Stern-Volmer grafikleri 2,2 molekülü için şekil 5'de ve 4,2 molekülü için şekil 6'da verilmiştir.



Şekil 4. GO varlığında 4,2 donör molekülü ile sırasıyla a) AcO, b) Fl, c) PyY ve d) Sft akseptörleri arasındaki FRET'i gösteren durgun hal floresans spektrumları



Şekil 5. 2,2 donör molekülü ile sırasıyla a) AcO, b) Fl, c) PyY ve d) Sft akseptörleri arasındaki FRET'e GO varlığının etkisini gösteren Stern-Volmer grafikleri



Şekil 6. 4,2 donör molekülü ile sırasıyla a) AcO, b) Fl, c) PyY ve d) SfT akseptörleri arasındaki FRET'e GO varlığının etkisini gösteren Stern-Volmer grafikleri

Bu çalışmada GO ilavesiyle donör-akseptör çiftleri arasındaki enerji transferinin nasıl değişim göstereceğinin incelenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen floresans spektrumlarından ve Stern-Volmer grafiklerinden, GO varlığında floresans şiddetinin ciddi oranda azaldığı fakat enerji transferinin tamamen sönümlenmesinin söz konusu olmadığı gözlenmiştir (Šimšiková, 2016). Stern-Volmer grafikleri incelendiğinde SfT haricindeki AcO, Fl ve PyY akseptör molekülleri için grafiğin lineer olduğu, SfT molekülünde ise eğimin lineer olmadığı gözlenmiştir (Li ve ark., 2014).. Lineer grafik veren AcO, Fl ve PyY akseptör molekülleri için hem 2,2 molekülü ile etkileşimlerde hem de 4,2 molekülü ile etkileşimlerde kuençleşme tipinin dinamik olduğunu, SfT molekülünün ise hem 2,2 donörü hem de 4,2 donörü ile etkileşiminin lineerlikten pozitif sapma gösteriyor olması kuençleşme türünün ya statik ya da dinamik olacağını gösterir (Ciotta ve ark., 2019). Floresans spektrumlarından elde edilen bir veri de kuantum verimi değerleridir. Genel olarak floresans kuantum verimi, moleküller tarafından salınan foton sayısının moleküller tarafından absorplanan foton sayısına oranı olarak tanımlanmaktadır (Valeur ve Berberan-Santos, 2012). Floresans kuantum verimi; floresans özelliği olan herhangi bir bileşiğin, fotofiziksel özelliklerinin incelenmesi için dikkate alınan en önemli parametrelerden biridir. Donör-akseptör çiftleri için elde edilen floresans kuantum verimi değerleri artan akseptör konsantrasyonuna göre 2,2 için çizelge 1'de 4,2 için ise çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 1. 2,2 molekülü ile AcO, Fl, PyY ve SfT molekülleri arasındaki FRET'e GO ilavesiyle gerçekleşecek kuçleşmeye ait floresans kuantum verimleri

[SfT] / M	ϕ_f	[AcO] / M	ϕ_f	[PyY] / M	ϕ_f	[Fl] / M	ϕ_f
0	0.072	0	0.038	0	0.091	0	0.021
1.0x10 ⁻⁶	0.060	1.0x10 ⁻⁷	0.032	1.0x10 ⁻⁷	0.041	5.0x10 ⁻⁷	0.012
2.0x10 ⁻⁶	0.062	3.0x10 ⁻⁷	0.026	2.0x10 ⁻⁷	0.070	7.0x10 ⁻⁷	0.004
3.0x10 ⁻⁶	0.059	5.0x10 ⁻⁷	0.023	3.0x10 ⁻⁷	0.065	1.0x10 ⁻⁶	0.0004
4.0x10 ⁻⁶	0.056	7.0x10 ⁻⁷	0.023	4.0x10 ⁻⁷	0.086	2.0x10 ⁻⁶	0.0013
5.0x10 ⁻⁶	0.053	9.0x10 ⁻⁷	0.021	5.0x10 ⁻⁷	0.065	3.0x10 ⁻⁶	0.0004
6.0x10 ⁻⁶	0.047	1.2x10 ⁻⁶	0.017	6.0x10 ⁻⁷	0.065	4.0x10 ⁻⁶	0.0007
7.0x10 ⁻⁶	0.053	1.5x10 ⁻⁶	0.012	7.0x10 ⁻⁷	0.062	5.0x10 ⁻⁶	0.0003
8.0x10 ⁻⁶	0.062			8.0x10 ⁻⁷	0.034		
1.0x10 ⁻⁵	0.041						

Çizelge 2. 4,2 molekülü ile AcO, Fl, PyY ve SfT molekülleri arasındaki FRET'e GO ilavesiyle gerçekleşecek kuçleşmeye ait floresans kuantum verimleri

[SfT] / M	ϕ_f	[AcO] / M	ϕ_f	[PyY] / M	ϕ_f	[Fl] / M	ϕ_f
0	0.090	0	0.032	0	0.098	0	0.019
1.0x10 ⁻⁶	0.072	1.0x10 ⁻⁷	0.019	1.0x10 ⁻⁷	0.074	5.0x10 ⁻⁷	0.012
2.0x10 ⁻⁶	0.068	3.0x10 ⁻⁷	0.022	2.0x10 ⁻⁷	0.080	7.0x10 ⁻⁷	0.011
3.0x10 ⁻⁶	0.062	5.0x10 ⁻⁷	0.019	3.0x10 ⁻⁷	0.093	1.0x10 ⁻⁶	0.010
4.0x10 ⁻⁶	0.058	7.0x10 ⁻⁷	0.019	4.0x10 ⁻⁷	0.080	2.0x10 ⁻⁶	0.006
5.0x10 ⁻⁶	0.042	9.0x10 ⁻⁷	0.028	5.0x10 ⁻⁷	0.073	3.0x10 ⁻⁶	0.003
6.0x10 ⁻⁶	0.042	1.2x10 ⁻⁶	0.020	6.0x10 ⁻⁷	0.064	4.0x10 ⁻⁶	0.001
7.0x10 ⁻⁶	0.051	1.5x10 ⁻⁶	0.020	7.0x10 ⁻⁷	0.063	5.0x10 ⁻⁶	0.0002
8.0x10 ⁻⁶	0.048	2.0x10 ⁻⁶	0.027	8.0x10 ⁻⁷	0.078	6.0x10 ⁻⁶	0.0008
1.0x10 ⁻⁵	0.046						

Kuantum verimi değerleri dikkate alındığında; genel olarak ortamda akseptör olmadığı duruma kıyasla, artan akseptör konsantrasyonu ile floresans kuantum verimlerinin azaldığı belirlenmiştir. Floresans karakterin, artan akseptör konsantrasyonu ile orantılı olarak zayıfladığı floresans kuantum verimi parametresi ile de desteklenmiştir. Ortamda bulunan GO'in ise donör floresansını belirgin derecede zayıflattığı ortamda akseptörün bulunmadığı durumdaki floresans kuantum verimi değerlerinden anlaşılmaktadır. Çünkü floresans kuantum verimi $0 < \Phi < 1$ değer alır. Kuantum veriminin sıfıra yaklaşması floresans karakterin zayıf olduğunu, bir değerine yaklaşması ise floresans karakterin baskın olduğunu ifade eder (Valeur, 2001). Hem 2,2 molekülünün hem de 4,2 molekülünün donör olduğu ortamdaki GO varlığı kuantum verimi değerlerinin sıfıra yakın değerler almasına sebep olmuştur (çizelge 1 ve çizelge 2).

Seçilen dört akseptör molekülün varlığında 2,2 molekülü için Förster'e göre hesaplanan enerji transfer parametreleri çizelge 3'de 4,2 molekülü için ise çizelge 4'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2,2 molekülü ile AcO, Fl, PyY ve SfT molekülleri arasındaki FRET'e GO ilavesiyle gerçekleşecek kuçleşmeye ait Förster enerji transfer parametreleri

Akseptör	$K_{sv} (M^{-1})$	$K (M^{-1})$	E	n
AcO	2.74x10 ⁵	7.13x10 ⁴	0.194	0.874
Fl	1.83x10 ⁴	6.97	0.145	0.769
PyY	2.43x10 ⁵	6.34x10 ⁶	0.285	1.131
SfT		1.68x10 ³	0.241	0.867

Çizelge 4. 4,2 molekülü ile AcO, Fl, PyY ve SfT molekülleri arasındaki FRET'e GO ilavesiyle gerçekleşecek kuçleşmeye ait Förster enerji transfer parametreleri

Akseptör	$K_{sv} (M^{-1})$	$K (M^{-1})$	E	n
AcO	8.87x10 ⁴	7.04x10 ⁴	0.097	0.913
Fl	1.96x10 ⁴	6.32	0.114	0.899
PyY	5.22x10 ⁵	3.90x10 ⁶	0.190	1.135
SfT		2.35x10 ³	0.250	0.929

Förster parametrelerinden K değerinin büyüklüğü moleküller arasında etkileşimin güçlü olduğunu ifade eder. Her iki donör molekül için de akseptör problemlerle etkileşimlerde benzer eğilim olduğu görülmüştür. Buna göre donör-akseptör etkileşimi için hem 2,2 molekülü hem de 4,2 molekülünde $PyY > AcO > SFT > Fl$ sıralaması geçerlidir. n değeri ise bağlanma bölgesi sayısıdır ve değerin 1.0 civarında olması donör-akseptör çiftlerinin tek bölgeden etkileştiğini göstermektedir (Ghosh ve ark., 2014; He ve Tian, 2018). Stern-Volmer hız sabitinin büyük değer alması, enerji transferinin gerçekleşme oranının yüksek olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilir. Bağlanma sabiti, Stern-Volmer sabiti ve bağlanma bölgesi sayısı değerleri 2,2 molekülü için çizelge 3’de ve 4,2 molekülü için çizelge 4’de incelendiğinde PyY molekülünün hem 4,2 molekülü hem de 2,2 molekülü ile olan etkileşimin güçlü olduğu anlaşılmaktadır. E değeri enerji transferi verimliliği olup donör-akseptör çifti arasında enerji transferinin gerçekleşme oranını ifade etmektedir (Afzal ve ark., 2018). 0-1 arasında değer alır ve 1’e yakın olması enerji transferinin gerçekleştiğini ifade eder. Burada hem çizelge 3 hem de çizelge 4’de E değerlerinin sıfıra yakın değerlerde olması enerji transferinin GO tarafından yüksek oranda zayıflatıldığını ifade etmektedir. Bu durum aynı zamanda GO’in kuençleştirici etkisini ispat eder (Ariga ve ark., 2017).

SONUÇ

Bu çalışmada GO’in kuençleştirici özelliğinin floresans enerji transfer prosesleri üzerine etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda her bir enerji transfer donör-akseptör ikili sistemine eklenen GO’in benzer kuençleştirici etkide bulunduğu anlaşılmıştır. GO varlığı donör-akseptör arasındaki floresans enerji transferini durdurmamış fakat zayıflatmıştır. Hesaplanan floresans kuantum verimi değerleri, Stern-Volmer sabiti ve bağlanma sabiti değerleri, Förster kinetiği değerleri enerji transferinin zayıfladığını göstermiştir. Özellikle enerji transfer verimliliği değerlerinin sıfıra yakın değerlerde olması GO’in floresans enerji transferi üzerine sönümleyici etkisini ispat etmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan pirazolin türevi moleküller KTÜ Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet YAŞAR tarafından sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Çalışmaya katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Yazar, bu araştırma makalesinde herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazar Katkısı

Bu araştırma makalesinin tasarımının, deneylerinin, hesaplamalarının ve yazımının makalenin tek yazarı olarak tarafımdan yapıldığını beyan ederim.

KAYNAKLAR

- Afzal, Saima, Mohd Sajid Lone, Parvaiz Ahmad Bhat, and Aijaz Ahmad Dar. 2018. “Multi-Step Fluorescence Resonance Energy Transfer between the Fluorophores via Cosolubilization in Cationic, Anionic and Non-Ionic Micelles.” *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 365 (June): 220–31. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.08.002>.
- Ariga, Girish G., Praveen N. Naik, Shivamurti A. Chimatadar, and Sharanappa T. Nandibewoor. 2017. “Interactions between Epinastine and Human Serum Albumin: Investigation by Fluorescence, UV–Vis, FT–IR, CD, Lifetime Measurement and Molecular Docking.” *Journal of Molecular Structure* 1137 (June): 485–94. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2016.12.066>.

- Aydin, Burcu Meryem, Murat Acar, Mustafa Arik, and Yavuz Onganer. 2009. "The Fluorescence Resonance Energy Transfer between Dye Compounds in Micellar Media." *Dyes and Pigments* 81 (2): 156–60. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2008.10.002>.
- Bozkurt, Ebru. 2018. "Organize Surfaktant Yapılar Varlığında Floresin ve Safranin-T Arasındaki Enerji Transferi." *Journal of the Institute of Science and Technology* 8 (1): 143–55. <https://doi.org/10.21597/jist.407862>.
- Cimilli Çatır, Fulya Esra. 2020. "Grafen Oksitin Modifiye Hummers Yöntemi İle Sentezi ve Film Olarak Al/GO/n-InP Diyot Performansına Etkileri." *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 11: 235–44. <https://doi.org/10.17714/gumusfenbil.770061>.
- Ciotta, E., P. Proposito, and R. Pizzoferrato. 2019. "Positive Curvature in Stern-Volmer Plot Described by a Generalized Model for Static Quenching." *Journal of Luminescence* 206 (August 2018): 518–22. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2018.10.106>.
- De, Swati, Susmita Das, and Agnishwar Girigoswami. 2005. "Environmental Effects on the Aggregation of Some Xanthene Dyes Used in Lasers." *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 61 (8): 1821–33. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.06.054>.
- García Sánchez, F., and C. Carnero Ruiz. 1996. "Intracellular Energy Transfer in Aqueous CTAB Solutions." *Journal of Luminescence* 69 (4): 179–86. [https://doi.org/10.1016/S0022-2313\(96\)00116-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2313(96)00116-0).
- Ghosh, Aniruddha, Kriti Sengupta, Rumpa Saha, and Bidyut Saha. 2014. "Effect of CPC Micelle on N-Hetero-Aromatic Base Promoted Room Temperature Permanganate Oxidation of 2-Butanol in Aqueous Medium." *Journal of Molecular Liquids* 198: 369–80. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2014.07.018>.
- He, Xiao Peng, and He Tian. 2018. "Lightening Up Membrane Receptors with Fluorescent Molecular Probes and Supramolecular Materials." *Chem* 4 (2): 246–68. <https://doi.org/10.1016/j.chempr.2017.11.006>.
- He, Xuwen, Ling Hong Xiong, Yalan Huang, Zheng Zhao, Zaiyu Wang, Jacky Wing Yip Lam, Ryan Tsz Kin Kwok, and Ben Zhong Tang. 2020. "AIE-Based Energy Transfer Systems for Biosensing, Imaging, and Therapeutics." *TRAC Trends in Analytical Chemistry* 122 (January): 115743. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2019.115743>.
- Ju Youn, Hee, Ewald Terpetschnig, Henryk Szmackinski, and Joseph R. Lakowicz. 1995. "Fluorescence Energy Transfer Immunoassay Based on a Long-Lifetime Luminescent Metal-Ligand Complex." *Analytical Biochemistry* 232 (1): 24–30. <https://doi.org/10.1006/abio.1995.9966>.
- Kalyanasundaram, K., and J. K. Thomas. 1977. "Solvent-Dependent Fluorescence of Pyrene-3-Carboxaldehyde and Its Applications in the Estimation of Polarity at Micelle-Water Interfaces." *The Journal of Physical Chemistry* 81 (23): 2176–80. <https://doi.org/10.1021/j100538a008>.
- Korkmaz, Kubilay, Burcu Meryem Beşer, Ayşe Merve Şenol, and Yavuz Onganer. 2021. "Safranin T-SDS- GO Ternary System: A Fluorescent PH Sensor." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 206 (July). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111977>.
- Lakowicz, Joseph R. 2006. *Principles of Fluorescence Spectroscopy Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Principles of Fluorescence Spectroscopy, Springer, New York, USA, 3rd Edn, 2006. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>.

- Li, Junfen, Jinzeng Li, Yong Jiao, and Chuan Dong. 2014. "Spectroscopic Analysis and Molecular Modeling on the Interaction of Jatrorrhizine with Human Serum Albumin (HSA)." *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 118: 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.07.029>.
- Mishra, Vikash K., Mitali Mishra, Varsha Kashaw, and Sushil K. Kashaw. 2017. "Synthesis of 1,3,5-Trisubstituted Pyrazolines as Potential Antimalarial and Antimicrobial Agents." *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 25 (6): 1949–62. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2017.02.025>.
- Nan, Zhezhu, Changchun Hao, Xiaoqi Ye, Ying Feng, and Runguang Sun. 2019. "Interaction of Graphene Oxide with Bovine Serum Albumin: A Fluorescence Quenching Study." *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 210: 348–54. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.11.028>.
- Nee Pant, Geeta Joshi, Pramod Singh, B. S. Rawat, M. S.M. Rawat, and G. C. Joshi. 2011. "Synthesis, Characterization and Fluorescence Studies of 3,5-Diaryl Substituted 2-Pyrazolines." *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 78 (3): 1075–79. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2010.12.053>.
- Perdana, Fitra, Yum Eryanti, and Adel Zamri. 2015. "Synthesis and Toxicity Assessments Some Para-Methoxy Chalcones Derivatives." *Procedia Chemistry* 16: 129–33. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.040>.
- Qi, Haixia, Guangquan Li, Wenyi Xiao, Qiusheng Wang, Tao Zhu, and Guowen Li. 2007. "Fluorescence Resonance Energy Transfer Mediated by Vesicles Containing Naphthalene Moiety." *Dyes and Pigments* 74 (2): 454–57. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2006.03.005>.
- Ramkumar, V., and P. Kannan. 2015. "Highly Fluorescent Semiconducting Pyrazoline Materials for Optoelectronics." *Optical Materials* 46 (May 2021): 605–13. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2015.05.045>.
- Sarkar, Arindam, and Subhash Chandra Bhattacharya. 2012. "Selective Fluorescence Resonance Energy Transfer from Serum Albumins to a Bio-Active 3-Pyrazolyl-2-Pyrazoline Derivative: A Spectroscopic Analysis." *Journal of Luminescence* 132 (10): 2612–18. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2012.04.053>.
- Šimšíková, M. 2016. "Interaction of Graphene Oxide with Albumins: Effect of Size, PH, and Temperature." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 593: 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.02.015>.
- Steiner, R F. 1984. *Principles of Fluorescence Spectroscopy - Lakowicz, Jr. Anal Biochem.* Vol. 137. [https://doi.org/Doi 10.1016/0003-2697\(84\)90125-8](https://doi.org/Doi 10.1016/0003-2697(84)90125-8).
- Valeur, Bernard. 2001. *Molecular Fluorescence Principles and Applications.* Wiley-VCH Verlag GmbH. <https://doi.org/10.1002/3527600248>.
- Valeur, Bernard, and Mário Nuno Berberan-Santos. 2012. "Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Imaging Fluorescence Applications in Biotechnology and Life Sciences Surface Enhanced Raman Spectroscopy Applied and Industrial Photochemistry."
- Vera-López, S., P. Martínez, M. P. San Andrés, A. M. Díez-Pascual, and M. Valiente. 2018. "Study of Graphene Dispersions in Sodium Dodecylsulfate by Steady-State Fluorescence of Pyrene." *Journal of Colloid and Interface Science* 514: 415–24. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.12.052>.
- Verkman, A. S. 1987. "Mechanism and Kinetics of Merocyanine 540 Binding to Phospholipid Membranes." *Biochemistry* 26 (13): 4050–56. <https://doi.org/10.1021/bi00387a046>.

- Yazıcı, Mustafa, İsmail Tiyeek, Mehmet Sabri Ersoy, Mehmet Hakkı Alma, Utkay Dönmez, Behzat Yıldırım, Tufan Salan, et al. 2016. "Modifiye Hummers Yöntemiyle Grafen Oksit (GO) Sentezi Ve Karakterizasyonu." *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi Part C: Tasarım ve Teknoloji* 4 (2): 41–48. <http://dergipark.gov.tr/http-gujsc-gazi-edu-tr/issue/24939/263249>.
- Zaaba, N. I., K. L. Foo, U. Hashim, S. J. Tan, Wei Wen Liu, and C. H. Voon. 2017. "Synthesis of Graphene Oxide Using Modified Hummers Method: Solvent Influence." *Procedia Engineering* 184: 469–77. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.04.118>.