

AKÜ FEMÜBİD 18 (2018) 011202 (796-806)

AKU J. Sci. Eng. 18 (2018) 011202 (796-806)

DOI: 10.5578/fmbd.67738

Araştırma Makalesi / Research Article

Sulu Ortamda Fe²⁺ İyonlarını Seçici Olarak Tayin İçin Yeni Bir Kolorimetrik ve Floresan Kemosensör

Mecit Özdemir¹¹ Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Kilis.

e-posta: mecitozdemir@kilis.edu.tr

Geliş Tarihi: 25.01.2018 ; Kabul Tarihi: 28.11.2018

Özet

Anahtar kelimeler

Kolorimetrik; Floresan;
Kemosensör;
Kumarin;Demir (II);
Seçicilik.

Son zamanlarda, kolorimetrik ve floresan sensörler, sulu ortamdaki ağır ve geçiş metal iyonlarının duyarlı ve seçici olarak tayin çalışmalarında düşük maliyet, kolay kullanım, yüksek performans, karmaşık olmayışı, test kiti olarak hazırlanma gibi avantajlar sağladıkları için önemli derecede ilgi çekmiştir. Bu çalışmada, kumarin temelli yeni bir kemosensör sentezlenmiş ve elementel analiz, FT-IR, Tandem kütle, ¹H NMR ve ¹³C NMR spektroskopileri kullanılarak karakterize edilmiştir. Daha sonra, sensör C1'in seçicilik ve duyarlılık özelliği, biyolojik ve çevresel açıdan öneme sahip bazı metal iyonlarına karşı DMSO-H₂O (v/v, 2:1) ortamında araştırılmıştır. UV-vis absorpsiyon ve floresan deneylerinden elde edilen sonuçlar, kemosensör C1'in sadece demir (II) iyonlarına yönelik seçicilik ve duyarlılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

A New, Colorimetric and Fluorescent Chemosensor for The Selective Detection of Fe²⁺ in Aqueous Media

Abstract

Keywords

Colorimetric;Fluorescence;
Chemosensor; Coumarine;
Iron (II); Selectivity.

Recently, colorimetric and fluorescent sensors providing advantages such as low cost, easy to use, high performance, unsophisticated, presentable as a test kit etc have attracted an important interest. In this study, a new chemosensor based on a coumarine derivative was synthesized and characterized by using Elemental analysis, Tandem mass, FT-IR, ¹H NMR and ¹³C NMR spectroscopies. After that, the selectivity and sensitivity behavior of chemosensor C1 towards biologically and environmentally important some metal ions was investigated in DMSO-H₂O (v/v, 2:1) media. The results obtained from UV-vis absorption and fluorescence experiments revealed that chemosensor C1 shows a good selectivity and sensitivity to only Fe²⁺ ions.

1. Giriş

Demir, insan bedeninde en fazla bulunan ve hayati öneme sahip geçiş metallere aittir. Demir, biyolojik sistemlerde birçok önemli rol oynamakta olup eksikliği veya fazlalığı durumlarında çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. Örneğin, hemoglobinin yapısında bulunup oksijen taşınmasında, ATP üretimi ve DNA sentezinde önemli görev alır. Canlı hücrelerde demirin serbest iyon formları toksik etkiye sahiptir. Demir eksikliğinde anemi, kanser, kalp, pankreas ve karaciğerle ilgili rahatsızlıklar ortaya çıkmaktadır. Dahası, biyolojik sistemde meydana gelen birçok enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak yer alır (García-Beltrán et al., 2013; Yao et al., 2009; Li et al., 2014).

Son zamanlarda, spesifik kimyasal türleri algılama ve tespit etme kabiliyetlerinden dolayı kolorimetrik ve floresan kemosensörler biyoloji, analitik kimya, ve çevre kimyası alanlarında ilgi odağı olmuşlardır (Ma et al., 2014; Yang et al., 2011). Özellikle, çok yaygın olarak kullanılan alkali, toprak alkali, toprak ve ağır geçiş metallere aittir. Belirleme ve tayini için kolorimetrik/floresan kemosensörlerin tasarımı ve sentezlenmesi önem kazanmıştır. Bu sensörler sentezlenirken yaygın olarak rhodamin, fluorescein, ve kumarin grubu floroforlar kullanılmaktadır (Yao et al., 2009; Sahoo et al., 2012; Hirayama et al., 2013). Kumarin temelli floresan sensörler, ışığa karşı kararlılık, geniş 'Stokes' kayması, uzun dalga boyu emisyon, yüksek absorplama katsayısı, hedef metal iyonuyla etkileşiminde gözle görülebilir renk değişimi ve yüksek kuantum verimine sahip olmalarından dolayı araştırmacılar tarafından yoğun bir şekilde çalışılmaktadır (Katerinopoulos, 2004; Song et al., 2012; En et al., Wang et al., 2014; 2014; Yan et al., 2016). Söz konusu floresan sensörler kullanılarak hedef metal iyonlarını tayin etme yöntemi, yaygın olarak kullanılan enstrümental metotlarla kıyaslandığında bazı öne çıkan avantajlara sahiptir. Bu üstünlüklere, düşük maliyet, hızlı yanıt verme, numuneye zarar vermeme, anlık hedef molekülü gerçek zamanlı takip etme, uzman yardımına ihtiyaç duyulmaması, pahalı ve karmaşık sistemli cihazların olmaması ve test kiti olarak kullanılabilme özelliğine sahip

olmaları gibi özellikler örnek verilebilir (Chen et al., 2013; Hua and Wang, 2004).

Bu çalışmada, florofor grup olarak kumarin türevi seçilerek floresan özelliğe sahip kemosensör C1 sentezlenmiştir. UV-vis absorpsiyon ve floresan spektroskopileri kullanılarak, söz konusu sensörün biyolojik, kimyasal ve çevresel açıdan öneme sahip seçilmiş bazı metal iyonlarına karşı seçicilik ve duyarlılık çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, reseptör C1'in sadece Fe²⁺ iyonuna karşı duyarlılık ve seçicilik gösterdiği tespit edilmiştir. Buna ilave olarak, molekül C1 ile Fe²⁺ iyonu arasındaki bağlanma stokiyometrisi araştırılmış olup 1:1 (Fe²⁺/C1) bağlanma stokiyometrilere sahip oldukları tahmin edilmiştir. Elde edilen bulgular, kemosensör C1'in sulu ortamda demir (II) iyonunun seçici olarak tayini için kullanılabilceğini göstermiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Enstrümental analiz

Bu çalışmada kullanılan çözücüler ve reaktifler ticari firmalardan satın alınmış olup herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan alındığı gibi kullanılmıştır. Kumarin türevi aldehit ve N-amin daha önce yaygın bir şekilde sentezlenmiş olup, yayınlarda rapor edilmiştir (Takechi et al., 2000; Altural et al., 1989). Bu çalışmada, başlangıç reaktifleri daha önceki referanslara göre elde edilip kemosensör C1'in hazırlanmasında kullanılmıştır. Kemosensör C1'in karakterizasyon çalışmaları, Elementel analiz, FT-IR, Tandem MS/MS, ¹H NMR ve ¹³C NMR spektroskopileri kullanılarak yapılmıştır. Elementel analiz, *Thermo Scientific Flash 2000* model cihaz kullanılarak yapılmıştır. FT-IR ölçümü *Perkin Elmer FTIR (800)* model cihazı ile alınmıştır. Tandem MS/MS spektral analizi *AB Sciex 3200 QTRAP LC/MS/MS System* cihazı ile yürütülmüştür. ¹H NMR ve ¹³C NMR analizleri *Bruker High Performance Digital FT-NMR (400 MHz)* cihazı kullanılarak yapılmıştır. UV-vis absorpsiyon titrasyon çalışmaları ise *Varian Cary 100 bio* tip cihaz kullanılarak yürütülmüştür. Floresan çalışmaları ise *Varian Cary eclipse* spektrometresi kullanılarak yapılmıştır. Deneysel

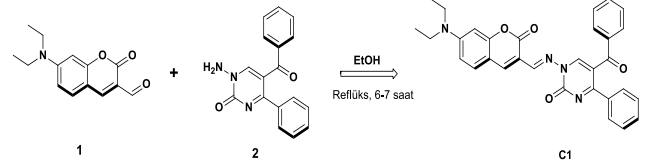
ölçümler/çalışmalar oda sıcaklığında uygun şartlar altında gerçekleştirilmiştir. pH ölçümleri, standart tampon çözeltisi ile kalibre edilmiş 'pocket pH meter' (Hanna Instruments Maritius) ile yapılmıştır.

2.2. Stok çözeltilerin hazırlanması

Kemosensör C1'in stok çözeltisi dimetil sülfoksit (DMSO) ortamında 1 mM (milimolar) derişimde hazırlanmış ve daha sonra mikro-molar (μ M) konsantrasyonlara DMSO-H₂O (v/v, 2:1, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4) içeren tampon çözeltisi kullanılarak seyreltilmiştir. Bazı alkali, toprak alkali, toprak ve ağır geçiş metallere (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺, Fe²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Al³⁺, Mn²⁺, Ag⁺) klor veya nitrat tuzları kullanılarak deiyonize su içerisinde 1 mM stok çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra, UV-vis absorpsiyon ve floresan spektrum ölçümleri için DMSO-H₂O (v/v, 2:1, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4) içerisinde μ M (mikro-molar) seviyesinde çözeltileri hazırlanmıştır.

2.3. Kemosensör C1'in sentezi

Kumarin aldehit (1) 0.490 g (2 mmol) alınarak 100 ml'lik bir balon içerisine koyuldu. Üzerine 25 ml susuz etanol ilave edilerek çözünmesi sağlandı. Sonra N-amin (2)'den 0.582 g (2 mmol) alınarak sıcak etanolde çözüldü ve balon içerisine dikkatlice ilave edildi. Manyetik karıştırıcı bir ısıtıcı üzerinde ve geri soğutucu altında, karışım 80-85 °C de 6-7 saat reflüks yapıldı. Bu süre sonunda reaksiyon sonlandırılıp ortamdaki etanol düşük basınç altında evaporatör yardımıyla uzaklaştırıldı. Elde edilen reaksiyon karışımı kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırıldı. Elüsyon yaparken hareketli faz olarak diklorometan:metanol (20:1) karışımı kullanıldı. Reaksiyon esnasında ürün oluşumu ince tabaka kromatografisi (İTK) ile kontrol edilmiştir. Kemosensör C1 kırmızı-turuncu renkli olup yaklaşık % 60 verimle 0.6 g elde edilmiştir.



Şekil 1: Kemosensör C1'in sentezi.

Elementel analiz (% C, H, N): Hesaplanan(Bulunan) 71.4(70.6), 5.03(4.92), 10,8(11,1). FTIR (C1, ν/cm^{-1}): 3059 (vw, aromatik, $\nu_{\text{Ar-H}}$), 2978-2933 (w, alifatik, $\nu_{\text{C-H}}$), 1719 (s, kumarin, $\nu_{\text{C=O}}$); 1681 (vs, pirimidin, $\nu_{\text{C=O}}$); 1655 (vs, benzoil, $\nu_{\text{C=O}}$); 1615 (s, azomethine, $\nu_{\text{C=N}}$), 1593 (vs, aromatic, $\nu_{\text{Ar-C=C}}$), 1556, 1509, 1474, 1446, 1424, 1357, 1267 (s, karbon-oksijen, $\nu_{\text{C-O}}$), 1187, 1132, 1075, 908, 794, 766, 689, 658, 574, 467. ¹H NMR (C1, 400 MHz, CDCl₃), δ (ppm):9.4 (s, 1H, azomethine, -N=C-H), 8.43 (s, 1H, Pirimidin, Py-H), 8.35 (s, 1H, Kumarin, -CH=), 7.65 (m, 2H, Ar-H), 7.63 (d, 2H, Ar-H), 7.53 (t, 1H, Ar-H), 7.51 (d, 2H, Ar-H), 7.33 (m, 2H, Ar-H), 7.30 (t, 1H, Ar-H), 7.21 (d, 2H, Ar-H), 3.47 (q, 2H, -NCH₂CH₃), 1.65 (s, çözücü), 1.24 (t, 3H, -NCH₂CH₃). ¹³C NMR (C1, 400 MHz, CDCl₃), δ (pmm): 191 (benzoil karbonil karbon, C=O), 172 (kumarin ester karbonil karbon, C=O), 171 (pirimidin amid karbon, C=O), 160.9, 160.7,158, 154, 152, 150, 148, 143, 136, 133, 131, 129.6, 129.2, 128.56, 128.52, 128.28, 128.25, 116.7, 116.3, 110.7, 110, 108, 97, 77 (Çözücü), 45 (2C, -NCH₂CH₃), 12 (2C, -NCH₂CH₃). Tandem kütle spektrumunda moleküler iyon ([C₃₁H₂₆N₄O₄]⁺) ait pik m/z = 518.9'da gözlemlendi. Parçalanma ürünlerine ait pikler 440, 277 ve 243'te tespit edildi.

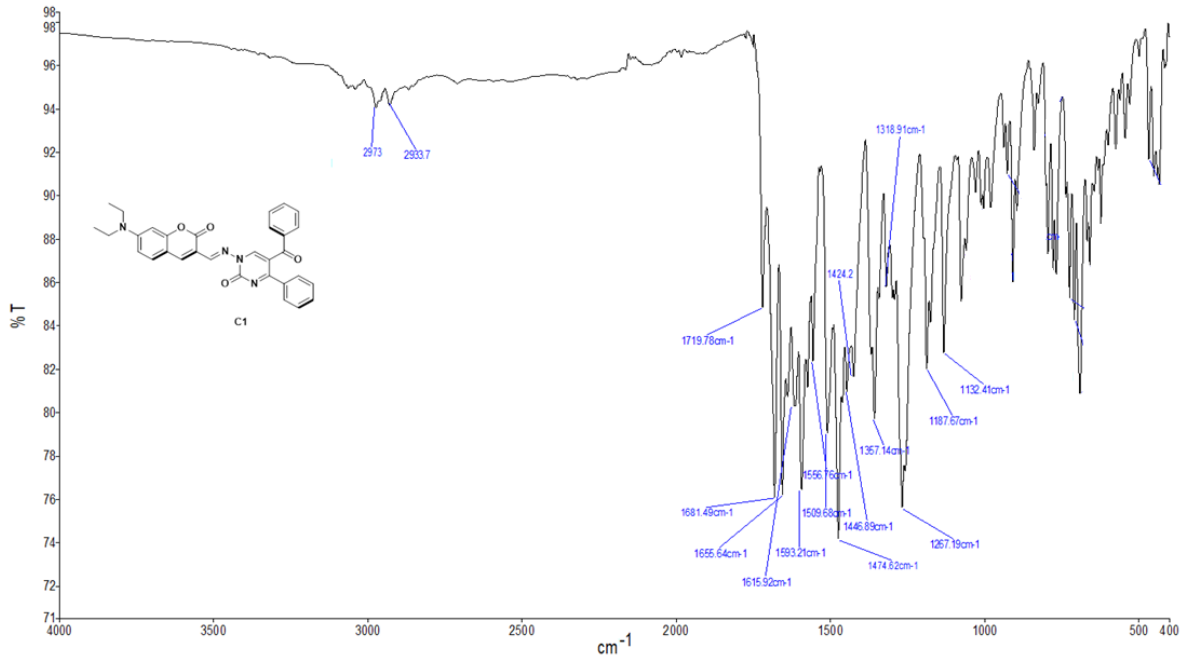
3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Kemosensör C1'in sentezi

Bu çalışmada yeni bir kemosensör C1, kumarin türevi aldehit (1) ile N-aminin (2) etanol ortamında kondenzasyon tepkimesi sonucu elde edilmiştir. Ayırma ve saflaştırma işlemleri yapıldıktan sonra molekül yapısı elementel analiz, FT-IR, ¹H NMR, ¹³C NMR spektroskopileri ve Tandem MS/MS analizleri yapılarak aydınlatılmıştır. Elementel analizde hesaplanan değerlerle enstrümental bulgular uyum içinde olduğu saptanmıştır.

FT-IR spektrumunda (Şekil 2) görüldüğü gibi moleküle ait karakteristik gerilme bantları daha önceki verilere uyumlu olarak tespit edilmiştir. Aromatik yapıdaki karbon-hidrojen (ν_{Ar-H}) arasındaki gerilme bandı 3059 cm^{-1} de düşük şiddetli olarak görülmüştür. Alifatik yapıdaki karbon-hidrojen (ν_{C-H}) arasındaki zayıf gerilme frekansları 2973 ve 2933 cm^{-1} de tespit edilmiştir (Gupta et al., 2013; Şahin et al., 2018). 1719 , 1681 ve 1655 cm^{-1} deki güçlü IR frekansları sırasıyla kumarinin yapısındaki ester, benzoil ve pirimidin grubuna ait karbonil ($\nu_{C=O}$) gruplarıyla ilişkilendirilmiştir (Sen et al., 2017; Ozdemir et al., 2017; Nuñez-Dallos et al., 2017). Bunlara ilave olarak, molekül yapısında bulunan azometin ($\nu_{N=C-H}$) ve aromatik karbon-karbon çift

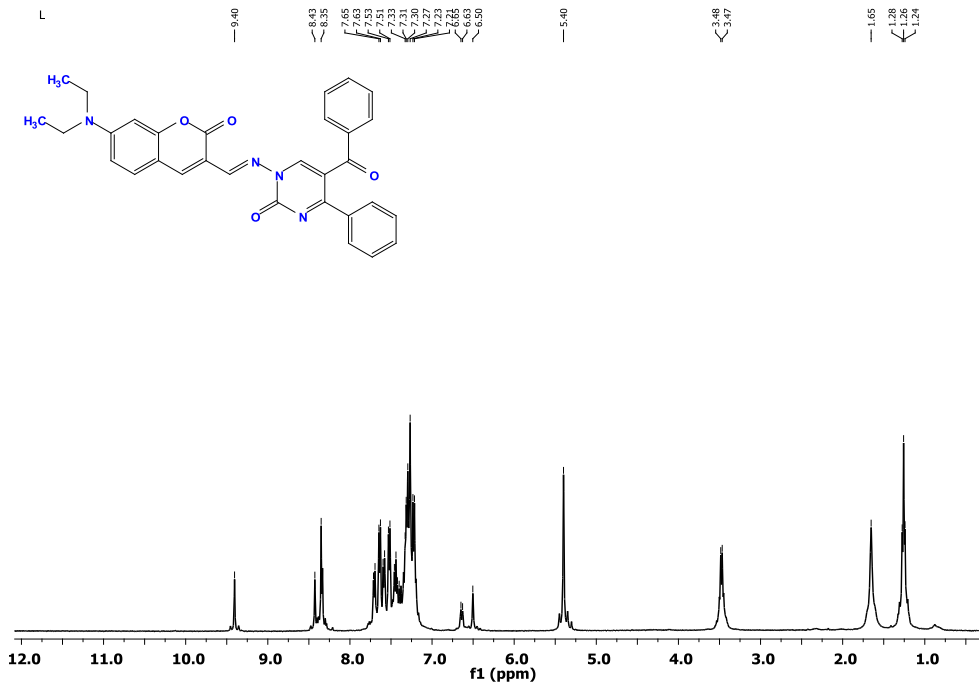
bağ (C=C) titreşim bantları sırasıyla 1615 ve 1593 cm^{-1} de kaydedilmiştir (Wang et al., 2012; Özdemir et al., 2015).



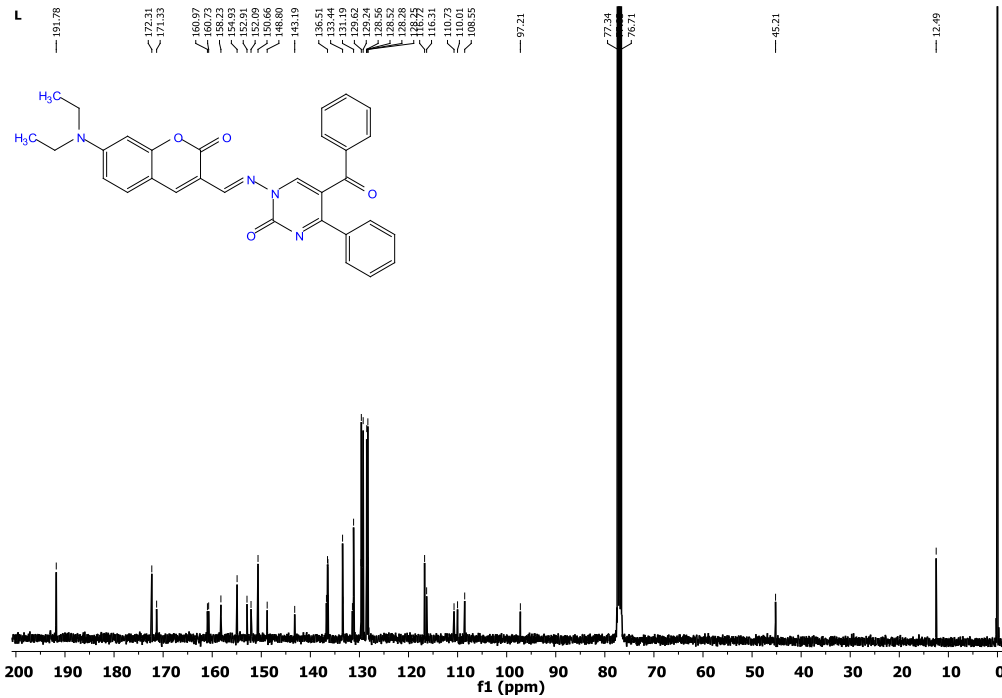
Şekil 2: Kemosensör C1'in FT-IR spektrumu.

¹H NMR spektrumu (Şekil 3) incelendiğinde önerilen molekül yapısında bulunan gruplara ait kimyasal kayma değerleri daha önceki çalışmalarda rapor edilenlere uygun oldukları gözlemlenmiştir. Azometin grubundaki protona ait kimyasal kayma (δ) 9.4 ppm 'de rezonans vermiştir. Pirimidin halkasındaki tek protona ait rezonans 8.43 ppm 'de görülmüştür (Ozdemir et al., 2017; He et al., 2017). Benzer bir şekilde, kumarin halkasında bulunan azometin grubuna komşu karbon üzerindeki proton

8.35 ppm 'de rezonans vermiştir. Molekülde bulunan aromatik bölge protonları daha önce rapor edilen değerlere uygun olarak tekli, ikili ve çoklu yarılmalar olmak üzere $6.5-7.65\text{ ppm}$ arasında kimyasal kayma vermişlerdir. Yine kumarine bağlı dietilamino-sübstitüe grubunun protonları da sırasıyla 4'lü ve 3'lü yarıma şeklinde 3.47 ve 1.24 ppm 'de kimyasal kayma göstermişlerdir (Qin and Yang, 2015; Wang et al., 2016; Ieda et al., 2016).



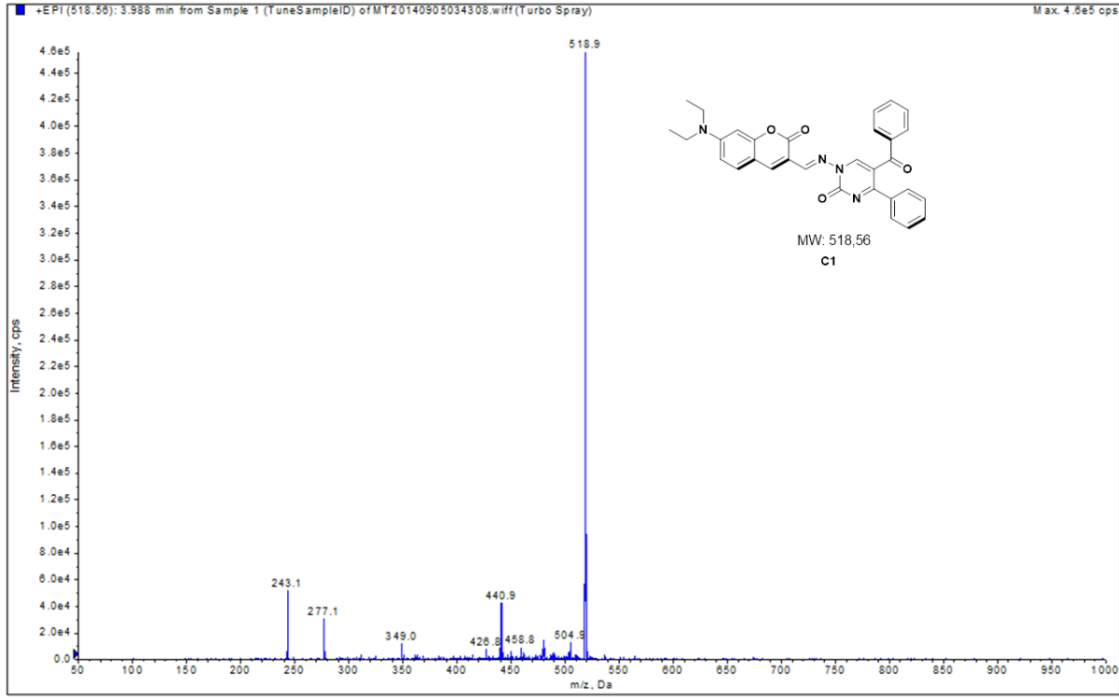
Şekil 3: Kemosensör C1'in ¹H NMR spektrumu (δ (ppm), CDCl₃).



Şekil 4: Kemosensör C1'in ¹³C NMR spektrumu (δ (ppm), CDCl₃).

Kemosensör C1'in ¹³C NMR spektrumu şekil 4'te sunulmuştur. Karbon atomlarının buldukları yer ve kimyasal çevreye bağlı olarak vermiş oldukları rezonans değerleri daha önceki bulgulara uygun bir şekilde tespit edilmiştir. Fenil grubunun bağlı olduğu karbonil karbonu (C=O) 191 ppm'de kimyasal kayma göstermiştir. Diğer karbonil

grupları (amid, ester) ise 172 ve 171 ppm'de rezonans vermişlerdir. Ek olarak, spesifik bölgede yer alan alifatik gruba (-NCH₂CH₃) ait karbonlar beklendiği gibi 45 ve 12 ppm'de kimyasal kayma göstermişlerdir (Ozdemir et al., 2017; Nuñez-Dallos et al., 2017; Yalçın et al., 2018).



Şekil 5: Kemosensör C1'in Tandem kütle spektrumu

Kemosensör C1'in yapısını aydınlatmak için yukarıdaki çalışmalara ek olarak tandem kütle analizi yapılmıştır (MS/MS). Şekil 5'te de görüldüğü gibi 518.9 da bir temel pik tespit edilmiştir. Bu değer, *chemdraw* programı yardımıyla teorik olarak hesaplanan molekül ağırlığına ($C_{31}H_{26}N_4O_4 = 518.86$) çok yakın olduğu görülmüştür. Buna ilave olarak, spektrumda, $[M+H]^+$ ve moleküler parçalanma iyonlarına da rastlanmıştır. Karakterizasyon çalışmalarından elde edilen bulguların kumarin türevi kemosensör C1'in yapısını doğruladığı gözlemlenmiştir.

3.2. Kemosensör C1'in UV-vis ve Floresan özelliklerinin araştırılması

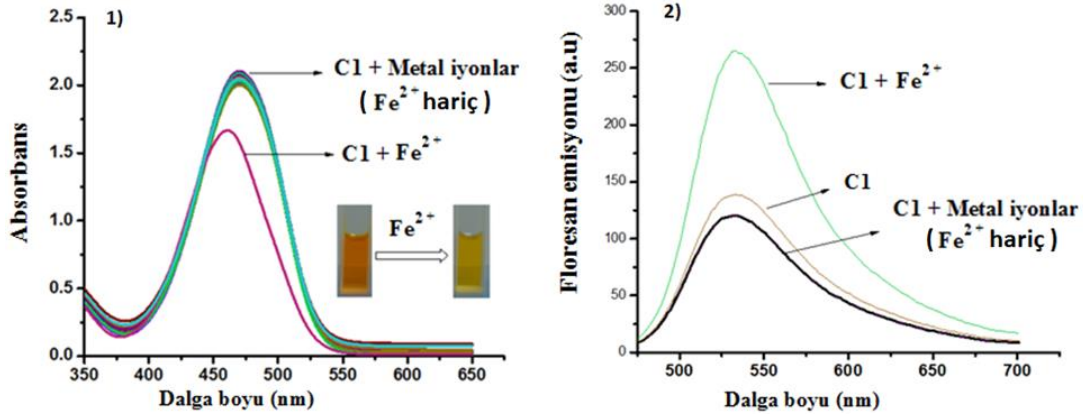
Kemosensör C1'in biyolojik ve çevresel açıdan öneme sahip bazı metal iyonlarına yönelik duyarlılık ve seçicilik özellikleri Tris-HCl tamponu (DMSO-H₂O, v/v 2:1, 10 mM, pH 7.2) ortamında araştırılmıştır (Goswami et al., 2013). İlk olarak UV-vis absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak 350-650 nm dalga boyları arasında absorpsiyon sepektrumları ölçülmüştür. Şekil 6 (1)'de görüldüğü gibi kemosensör C1, 350 ile 650 nm aralığında şiddetli bir absorpsiyon ($A_{max} = 2.3$, $\lambda = 469$ nm) yaptığı tespit edilmiştir.

Diğer taraftan, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cr³⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺, Fe²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺, Al³⁺, Mn²⁺ ve Ag⁺ metal iyonları (2.0 equiv.) sırasıyla kemosensör C1 (50 μ M)'in çözeltisine ilave edilip absorpsiyon spektrumları alındığında kayda değer bir değişiklik gözlenmezken, sadece Fe²⁺ (2.0 equiv.) iyonu sensörün bulunduğu çözelti ortamına eklendiğinde absorpsiyon spektrumunda azalma ve maksimum dalga boyunda maviye kayma ($\Delta A_{max} = 0.7$, $\Delta \lambda_{max} = 16$ nm, *blue shift*) görülmüştür. Aynı zamanda, Şekil 6(1)'deki fotoğrafta görüldüğü gibi, C1'in kırmızı-turuncu renkli çözeltisi Fe²⁺ iyonu eklendiğinde hemen sarıya dönüşmüştür. Deneysel sonuçlara göre, kemosensör C1'in söz konusu bu metal iyonları içerisinde sadece Fe²⁺ iyonlarına karşı hem renk dönüşümü olarak hem de absorpsiyon olarak kayda değer optik davranış değişikliği gösterdiği bulunmuştur.

Ek olarak, floresan spektroskopisi çalışmaları daha önceki metotlara uygun bir şekilde ve aynı fiziksel koşullarda incelenmiştir (Helal et al., 2011). Floresan spektrumu alınırken ekzitasyon dalga boyu (λ_{ex}) 465 nm ve slit genişliği 5 nm'ye ayarlanmıştır. Emisyon toplanması 475 nm ile 700 nm arasında yapılmıştır. Şekil 6 (2)'de görüldüğü gibi kemosensör C1'i serbest haldeyken floresan emisyonu bandı vermiştir. Fe²⁺ metal iyonu,

kemosensör C1 çözeltisine eklendiğinde floresan yoğunluğu yaklaşık iki katına çıkmıştır. Bunun aksine, diğer metal iyonları ayrı ayrı C1 çözeltisine

ilave edilip floresan spektrumları alındığında emisyonlarda önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.



Şekil 6: Kemosensör C1(50 µM)'in serbest halde ve metal iyonları eklendikten sonra vermiş olduğu UV-vis absorpsiyon (1) ve floresan spektrumları ($\lambda_{ex} = 465$ nm, silit aralığı = 5 nm) (2). Fotoğraf; Fe²⁺ metal iyonunun eklenmeden önceki ve eklendikten sonraki C1 çözeltisinin rengini göstermektedir.

Floresan spektroskopisi sonuçlarına bakıldığında, kemosensör C1 test edilen metal iyonları arasından sadece Fe²⁺ iyonlarına karşı kayda değer sinyal artışı gösterdiği saptanmıştır.

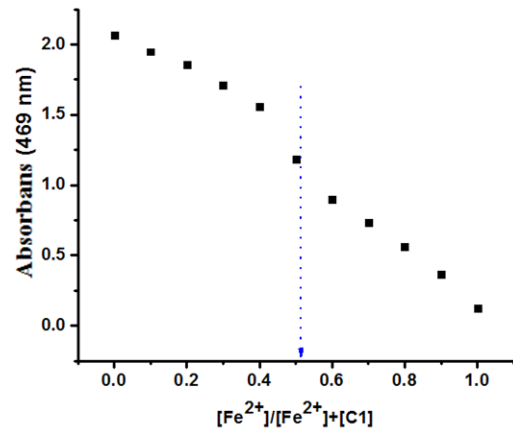
3.3. UV-vis ve floresan titrasyon deneyleri

Demir iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak absorpsiyon ve emisyon spektrumlarındaki değişimi gözlemlemek için titrasyon deneyleri yapılmıştır (Yao et al., 2009). Şekil 7 (1)'de görüldüğü gibi kemosensör C1 (50 µM) üzerine değişik konsantrasyonlarda Fe²⁺ iyonu (0-2.0 equiv.) eklendiğinde absorpsiyon spektrumları kademeli olarak azalmıştır. Yine aynı anda floresan spektrumları da alınmış olup Şekil 7 (2)'de gösterilmiştir. Elde edilen titrasyon deneyleri sonuçları, kemosensör C1'in spektrumlarının Fe²⁺ iyonu derişimine bağlı olarak orantısız değişim gösterdiğini ortaya koymuştur.

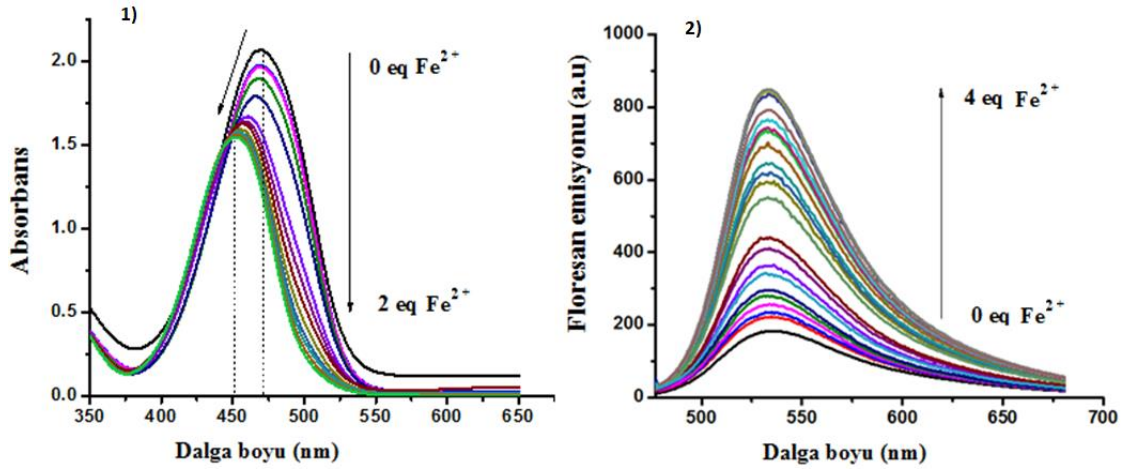
3.4. Job's plot uygulaması, bağlanma sabiti ve tayin alt sınırının belirlenmesi

Kemosensör C1 ile Fe²⁺ metal iyonu arasındaki bağlanma modunu araştırmak için Job's plot deneyi yapılmıştır (Ozdemir, 2016). C1'in Tris-HCl tamponu (DMSO-H₂O, v/v, 2:1, 10 mM, pH 7.2)

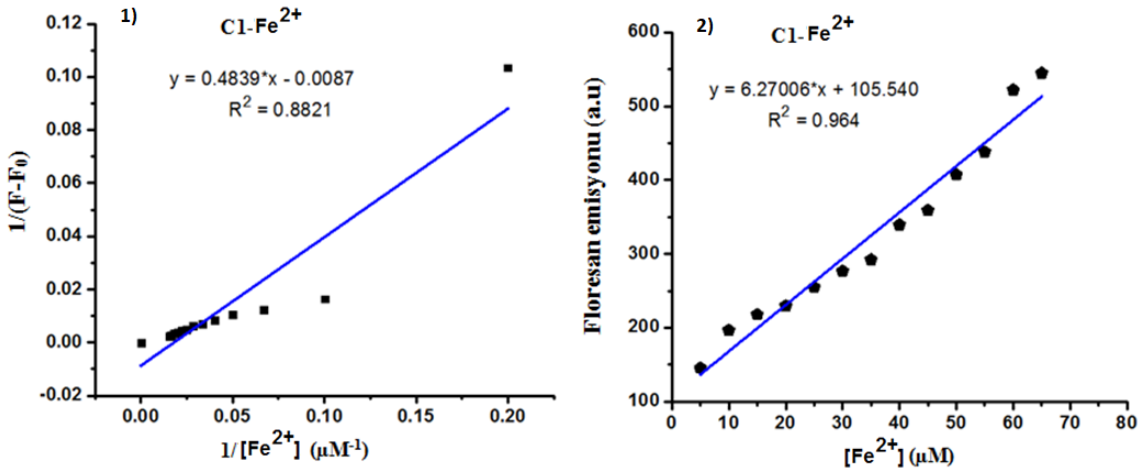
içerisinde hazırlanan değişik konsantrasyonlarına (0-50 µM) yine farklı konsantrasyonda Fe²⁺ iyonu (50-0 µM) ilave edilerek 469 nm'deki absorpsiyon değerleri ölçülmüştür. Çözelti ortamındaki metal iyonu ile kemosensör C1 konsantrasyonlarının toplamı ([Fe²⁺]+[C1]=50 µM) yürütülen her bir titrasyon deneyinde sabit tutulmuştur. Absorbans değerleri demir iyonu mol kesirine göre grafiğe geçirildiğinde Şekil 8'deki grafik elde edilmiştir. Kırılma noktasında mol fraksiyonuna çizilen doğru yaklaşık 0.5'i göstermektedir. Buradan da C1 ile Fe²⁺ arasındaki bağlanma oranlarının 1:1 olduğuna yönelik tahmin yürütülmüştür.



Şekil 8: Job's plot metoduyla kemosensör C1 ile Fe²⁺ iyonları arasındaki muhtemel bağlanma oranları.



Şekil 7: Kemosensör C1(50 µM)'in değişik konsantrasyonlarda Fe²⁺ iyonu eklendikten sonra alınmış UV-vis absorpsiyon (1) ve floresan spektrumları (2).



Şekil 9: Kemosensör C1'in floresan titrasyon verilerinin Benesi-Hildebrand eşitliğinde kullanılarak elde edilen regrasyon grafiği (1); Eklenen Fe²⁺ konsantrasyonlarına karşılık C1'in 529 nm'de göstermiş olduğu floresan emisyon yoğunluklarının grafik üzerinde gösterimleri (2).

Diğer taraftan, floresan titrasyon spektrumlarındaki emisyon yoğunlukları ($1/F-F_0$, $\lambda_{em} = 529$ nm) demir iyonu konsantrasyonlarına ($1/[Fe^{2+}]$ karşı Benesi-Hildebrand eşitliği (1) kullanılarak Şekil 9 (1)'deki grafik elde edilmiştir (Ozdemir, 2016). Buradaki verilerden bağlanma sabiti (K_a) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış olup 1.95×10^4 M⁻¹ olarak bulunmuştur.

$$\frac{1}{F-F_0} = \frac{1}{K_a(F_{max}-F_0)[Fe^{2+}]} + \frac{1}{F_{max}-F_0} \quad (1)$$

F ; metal iyonu eklendikten sonraki ölçülen emisyon yoğunluğu, F_0 ; C1'in metal eklenmeden önceki emisyon yoğunluğu, $[Fe^{2+}]$; eklenen demir iyonu konsantrasyonu, K_a ; bağlanma denge sabiti, $n=1$;

Fe²⁺ iyonları ile sensor C1 arasındaki bağlanma stokiometri.

Tayin alt sınırını hesaplamak için ise eklenen Fe²⁺ iyonu derişimine karşılık 529 nm'deki emisyon yoğunlukları grafiğe geçirilmiştir. Şekil 9 (2)'de görüldüğü gibi derişime karşılık emisyon yoğunlukları doğrusal bir artış göstermiştir.

$$DL = 3\sigma/m \quad (2)$$

σ : kör olarak kullanılan çözeltinin absorpsiyon değerlerinin standart sapması, m : derişime karşılık emisyon alınarak çizilen regrasyon grafiğinin eğimi. IUPAC tarafından tanımlanan tayin limiti eşitliği (Eşitlik 2) kullanılarak Fe²⁺ için sulu ortamda tayin

alt sınırı 0.2 µM olarak hesaplanmıştır (Jiang et al., 2012).

4. Sonuç

Bu çalışmada, kumarin temelli yeni bir kolorimetrik ve floresan davranış gösteren kemosensörün sentezi, karakterizasyonu ve spektroskopik uygulamaları rapor edilmiştir. Bulgular, kemosensör C1 seçilmiş bazı biyolojik ve çevresel açıdan öneme sahip metaller arasından sadece Fe²⁺ iyonuna karşı kayda değer absorpsiyon ve floresan cevap verdiğini göstermiştir. Fe²⁺ iyonu, sensör C1'in bulunduğu çözeltiye eklendiğinde çözeltinin rengi kırmızı-turuncu renkten sarıya dönmüştür. Kemosensör C1 ile Fe²⁺ iyonları arasındaki bağlanma oranlarının 1:1 ([C1]/[Fe²⁺]) olduğu önerilmiştir. Reseptör C1 kullanılarak sulu ortamdaki Fe²⁺ iyonu için tayin alt sınırı 0.2 µM ve bağlanma sabiti 1.95x10⁴ M⁻¹ olarak bulunmuştur. Özetle bu çalışmada: hızlı cevap veren, düşük maliyet sunan, sofistike ekipman ve uzman elaman gerektirmeyen ve kullanımı kolay olan kemosensör C1'in, sulu ortamdaki Fe²⁺ iyonunu tespit ve tayin etme çalışmalarında kullanılabileceği gösterilmiştir.

Teşekkür

Spektroskopik deneylerin yürütülmesi esnasında laboratuvarlarındaki cihazları kullanmama izin veren Prof. Dr. Mehmet Sönmez'e (Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü) ve Doç. Dr. Serhan Uruş'a (Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü) teşekkür ederim.

5. Kaynaklar

- Altural, B., Akcamur, Y., Saripinar, E., Yildirim, I.&Kollenz, G., 1989. Reactions of cyclic oxalyl compounds, part 29: A simple synthesis of functionalized 1H-pyrimidines. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*, **120**, 1015-1020.
- Chen, G.F., Jia, H.M., Zhang, L.Y., Hu, J., Chen, B.H., Song, Y.L.& Bai, G.Y., 2013. A highly selective fluorescent sensor for Fe³⁺ ion based on coumarin derivatives. *Research on Chemical Intermediates*, **39**, 4081-4090.

- En, D., Guo, Y., Chen, B.T., Dong, B.&Peng, M.J., 2014. Coumarin-derived Fe³⁺-selective fluorescent turn-off chemosensors: synthesis, properties, and applications in living cells. *RSC Advances*, **4**, 248-253.
- García-Beltrán, O., Mena, N., Yañez, O., Caballero, J., Vargas, V., Nuñez, M.T.&Cassels, B.K., 2013. Design, synthesis and cellular dynamics studies in membranes of a new coumarin-based "turn-off" fluorescent probe selective for Fe²⁺. *European journal of medicinal chemistry*, **67**, 60-63.
- Goswami, S., Sen, D., Das, A.K., Das, N.K., Aich, K., Fun, H.K., Quah, C.K., Maity, A.K.&Saha, P., 2013. A new rhodamine-coumarin Cu²⁺-selective colorimetric and 'off-on' fluorescence probe for effective use in chemistry and bioimaging along with its bound X-ray crystal structure. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **183**, 518-525.
- Gupta, V.K., Singh, A.K., Ganjali, M.R., Norouzi, P., Faridbod, F.&Mergu, N., 2013. Comparative study of colorimetric sensors based on newly synthesized Schiff bases. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **18**, 642-651.
- He, G., Li, J., Wang, Z., Liu, C., Liu, X., Ji, L.&Wang, Q., 2017. Synthesis of a fluorogenic probe for thiols based on a coumarin schiff base copper complex and its use for the detection of glutathione. *Tetrahedron*, **73**, 272-277.
- Helal, A., Rashid, M.H.O., Choi, C.H.&Kim, H.S., 2011. Chromogenic and fluorogenic sensing of Cu²⁺ based on coumarin. *Tetrahedron*, **67**, 2794-2802.
- Hirayama, T., Okuda, K.&Nagasawa, H., 2013. A highly selective turn-on fluorescent probe for iron (II) to visualize labile iron in living cells. *Chemical Science*, **4**, 1250-1256.
- Hua, J., Wang and Y.G., 2004. A highly selective and sensitive fluorescent chemosensor for Fe³⁺ in physiological aqueous solution. *Chemistry letters*, **34**, 98-99.
- Ieda, N., Yamada, S., Kawaguchi, M., Miyata, N.&Nakagawa, H., 2016. (7-

- Diethylaminocoumarin-4-yl) methyl ester of suberoylanilide hydroxamic acid as a caged inhibitor for photocontrol of histone deacetylase activity. *Bioorganic & medicinal chemistry*, **24**, 2789-2793.
- Jiang, Z.J., Lv, H.S., Zhu, J.&Zhao, B.X., 2012. New fluorescent chemosensor based on quinoline and coumarin for Cu²⁺. *Synthetic Metals*, **162**, 2112-2116.
- Katerinopoulos, H.E., 2004. The coumarine moiety as chromophore of fluorescent ion indicators in biological systems. *Curr. Pharm. Desing*, **10**, 3835-3852.
- Li, Z., Zhou, Y., Yin, K., Yu, Z., Li, Y. & Ren, J., 2014. A new fluorescence "turn-on" type chemosensor for Fe³⁺ based on naphthalimide and coumarin. *Dyes and Pigments*, **105**, 7-11.
- Ma, J., Sheng, R., Wu, J., Liu, W. & Zhang, H., 2014. A new coumarine-derived fluorescent sensor with red-emission for Zn²⁺ in aqueous solution. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **197**, 364-369.
- Nuñez-Dallos, N., Posada, A.F. & Hurtado, J., 2017. Coumarin salen-based zinc complex for solvent-free ring opening polymerization of ε-caprolactone. *Tetrahedron Letters*, **58**, 977-980.
- Ozdemir, M., 2016. A selective fluorescent 'turn-on' sensor for recognition of Zn²⁺ in aqueous media. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **161**, 115-121.
- Ozdemir, M., Sonmez, M., Sen, F., Dincer, M. & Ozdemir, N., 2017. Synthesis of a new heterocyclic Schiff base ligand "(E)-5-benzoyl-4-phenyl-1-((pyridin-2-ylmethylene) amino) pyrimidin-2 (1H)-one": An experimental and computational modeling study. *Journal of Molecular Structure*, **1127**, 626-635.
- Özdemir, M., Sönmez, M., Şen, F., Dinçer, M. & Özdemir, N., 2015. A novel one-pot synthesis of heterocyclic compound (4-benzoyl-5-phenyl-2-(pyridin-2-yl)-3, 3a-dihydropyrazolo [1, 5-c] pyrimidin-7 (6H)-one): Structural (X-ray and DFT) and spectroscopic (FT-IR, NMR, UV-Vis and Mass) characterization Studies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **137**, 1304-1314.
- Qin, J.C. and Yang, Z.Y., 2015. Design of a novel coumarin-based multifunctional fluorescent probe for Zn²⁺/Cu²⁺/S²⁻ in aqueous solution. *Materials Science and Engineering: C*, **57**, 265-271.
- Sahoo, S.K., Sharma, D., Bera, R.K., Crisponi, G. & Callan, J.F., 2012. Iron (III) selective molecular and supramolecular fluorescent probes. *Chemical Society Reviews*, **41**, 7195-7227.
- Sen, B., Sheet, S.K., Thounaojam, R., Jamatia, R., Pal, A.K., Aguan, K. & Khatua, S., 2017. A coumarin based Schiff base probe for selective fluorescence detection of Al³⁺ and its application in live cell imaging. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **173**, 537-543.
- Song, Y., Chen, Z. & Li, H., 2012. Advances in coumarin-derived fluorescent chemosensors for metal ions. *Current Organic Chemistry*, **16**, 2690-2707.
- Şahin, Ö., Özdemir, Ü.Ö., Seferoğlu, N., Genc, Z.K., Kaya, K., Aydiner, B. & Seferoğlu, Z., 2018. New platinum (II) and palladium (II) complexes of coumarin-thiazole Schiff base with a fluorescent chemosensor properties: Synthesis, spectroscopic characterization, X-ray structure determination, in vitro anticancer activity on various human carcinoma cell lines and computational studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **178**, 428-439.
- Wang, K., Ma, L., Liu, G., Cao, D., Guan, R. & Liu, Z., 2016. Two fluorescence turn-on coumarin Schiff's base chemosensors for cyanide anions. *Dyes and Pigments*, **126**, 104-109.
- Wang, L., Ye, D. & Cao, D., 2012. A novel coumarin Schiff-base as a Ni (II) ion colorimetric sensor. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **90**, 40-44.
- Wang, R., Wan, Q., Feng, F., Bai, Y., 2014. A novel coumarin-based fluorescence chemosensor for

Fe³⁺. *Chemical Research in Chinese Universities*, 30(4), 560-565.

Takechi, H., Oda, Y., Nishizono, N., Oda, K. & Machida, M., 2000. Fluorescent Labeling Reagents. Part 3. Screening Search for Organic Fluorophores: Syntheses and Fluorescence Properties of 3-Azoyl-7-diethylaminocoumarin Derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **48**, 1702-1710.

Yalçın, E., Alkış, M., Seferoğlu, N. & Seferoğlu, Z., 2018. A novel coumarin-pyrazole-triazine based fluorescence chemosensor for fluoride detection via deprotonation process: Experimental and theoretical studies. *Journal of Molecular Structure*, **1155**, 573-581.

Yan, Z., Hu, L. & You, J., 2016. Sensing materials developed and applied for bio-active Fe³⁺ recognition in water environment. *Analytical Methods*, **8**, 5738-5754.

Yang, Z., She, M., Yin, B., Cui, J., Zhang, Y., Sun, W. & Shi, Z., 2011. Three Rhodamine-based "off-on" Chemosensors with high selectivity and sensitivity for Fe³⁺ imaging in living cells. *The Journal of organic chemistry*, **77**, 1143-1147.

Yao, J., Dou, W., Qin, W. & Liu, W., 2009. A new coumarin-based chemosensor for Fe³⁺ in water. *Inorganic Chemistry Communications*, **12**, 116-118.