



FENOLFTALEİN TABANLI FLORESANS SENSÖR SENTEZİ VE SULU ORTAMDA AĞIR METALLERE KARŞI OPTİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

¹Yasemin ÜNSAL , ²Egemen ÖZÇELİK , ³Mustafa TABAKCI 

Konya Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Konya, TÜRKİYE

yaseminunsalbir@gmail.com, egemen.ozcelik@ktun.edu.tr, mtabakci@ktun.edu.tr

(Geliş/Received: 15.08.2021; Kabul/Accepted in Revised Form: 21.12.2021)

ÖZ: Bu çalışmada (R)-(-)-2-fenilglisinol ile türevlendirilmiş fenolftalein tabanlı ligand L bileşiği sentezlendi ve yapısı ¹H-NMR ve FTIR spektroskopisi ile karakterize edildi. Hazırlanan fenolftalein tabanlı ligand L'nin farklı katyonlara karşı optik özellikleri etanol-su (95/5; v/v) ortamında floresans ve UV-GB spektroskopisi ile incelendi. Ligand L'nin Zn²⁺ katyonuna karşı diğer katyonlara göre 454 nm'de şiddetli, seçimli ve hassas bir floresans özelliği gösterdiği belirlendi. Ligand L'nin Zn²⁺ ile kompleksleşme mekanizması, ICT ve C=N izomerizasyonunun engellenmesi ve kompleksleşme ile açıklandı. Ligand L ile Zn²⁺ katyonu arasında floresans titrasyon çalışması gerçekleştirildi ve gerekli sensör parametreleri incelendi. Job grafiğine göre, kompleksleşme oranı 1:2 olarak belirlendi. Bağlanma sabiti Benesi-Hildebrand denklemine göre $1,72 \times 10^{12}$ (logK= 12,24) olarak hesaplandı. Limit algılama değeri 118 nM olarak hesaplandı. Tüm veriler incelendiğinde, hazırlanan fenolftalein tabanlı ligand L'nin Zn²⁺ katyonuna karşı seçimli ve hassas floresans sensör özellikleri gösterdiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Çinko, Fenolftalein, Floresans Spektroskopisi, Optik Sensör

Synthesis of Phenolphthalein-Based Fluorescence Sensor and Investigation of Its Optical Properties Towards Heavy Metals in Aqueous Media

ABSTRACT: In this study, phenolphthalein-based ligand L compound derivatized with R-2-phenylglycinol was synthesized and its structure was characterized by ¹H-NMR and FTIR spectroscopy. Optical properties of the prepared phenolphthalein-based ligand L towards different cations were investigated by fluorescence and UV-VIS spectroscopy in ethanol-water (95/5; v/v) medium. It was determined that ligand L showed a strong, selective and sensitive fluorescence at 454 nm towards the Zn²⁺ cation compared to other cations. The mechanism of ligand L complexing with Zn²⁺ was explained by ICT and inhibition of C=N isomerization and complexation. Fluorescence titration study was performed between ligand L and Zn²⁺ cation and necessary sensor parameters were examined. According to the Job plot, the complexing ratio was determined as 1:2. The binding constant was calculated as 1.72×10^{12} (logK= 12.24) according to the Benesi-Hildebrand equation. The limit detection value was calculated as 118 nM. When all data were examined, it was determined that the prepared phenolphthalein-based ligand L showed selective and sensitive fluorescence sensor properties against Zn²⁺ cation.

Keywords: Fluorescence spectroscopy, Optical sensor, Phenolphthalein, Zinc

GİRİŞ (INTRODUCTION)

Çinko (Zn) doğada en çok bulunan temel geçiş metallere birisidir ve birçok fizyolojik süreçte bulunan 300'den fazla canlı metalloenzimleri içeren kofaktör olarak kullanılır (Tabakci ve diğ., 2019;

Erdemir ve Tabakci, 2018). Ancak insanlar yüksek miktarlarda Zn^{2+} maruz kaldıklarında Alzheimer, Serebral Palsi, epilepsi gibi nörodejenaratif sendromlara, gelişim ve işlev bozukluklarına neden olmaktadır (Venkatesen ve diğ., 2019; Park ve diğ., 2014). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) içme suları için maksimum kabul edilebilir sınır değeri $76 \mu M$ olarak belirlemiştir (Park ve diğ., 2014). Çevrede bulunan yüksek konsantrasyondaki Zn^{2+} fotosentezi engellediği ve koruyucu enzimi düşürmesinden kaynaklı olarak bitkiler için toksik hale gelmektedir (Wang ve diğ., 2018). Bu nedenle Zn^{2+} gibi birçok ağır metalin hassas ve seçimli bir şekilde tespit edilmesi gerekmektedir. Literatürde Zn^{2+} katyonunun optik olarak tespit edilmesi için birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar arasında kaliksaren (Joseph ve diğ., 2008; Erdemir ve Tabakci, 2018, Erdemir ve diğ., 2019), naftalaldehit (Zhu ve diğ., 2017), benzotiyazol (Venkatesan ve diğ., 2019), benzotriazol (Liu ve diğ., 2015), kumarin (Roy ve diğ., 2015), rodamin (Sasaki ve diğ., 2010), benzohidrazin (Wang ve diğ., 2018), kinolin-piridin (Hojitsiryanont ve diğ., 2021), aminosasilimin (Park ve diğ., 2014), akridin (Nunes ve diğ., 2019), siyanobifenil (Bie ve diğ., 2020), 2-hidrazinilkinolin (Maity ve diğ., 2019), naftol-tiyazol (Helal ve diğ., 2012), antrasen (Erdemir ve Kocyigit, 2018), indol (Xu ve diğ., 2015), aminokinolin (Fu ve diğ., 2019), kinolin (Gao ve diğ., 2019), bisfenol (Rajasekaran ve diğ., 2020; Tabakci ve ark. 2019), floresein (Erdemir ve Tabakci, 2017; Erdemir ve Kocyigit 2017), fenolftalein (Erdemir ve diğ. 2019; Erdemir ve Kocyigit 2017, Alici ve Aydın 2021) gibi birçok farklı yapı kullanılarak floresans sensörler geliştirilmiştir. Literatür incelendiğinde birçok çalışmada Schiff bazı türevi kullanıldığı görülmektedir. İmin yapısındaki $C=N$ bağından dolayı uyarıldığında $C=N$ izomerizasyonu sonucunda bir baskılanma gerçekleşir ve yapı floresans özellik gösteremez. Ancak kompleksleşme sonucunda florofor gruplar $C=N$ izomerizasyonu bozulduğu için floresans özellik tekrar ortaya çıkmaktadır (Tabakci ve diğ., 2019). Bu bilgiler floresans çalışmalarında Schiff bazı türevlerinin etkili olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Dolayısıyla bu çalışmada da (R)-(-)-2-fenilglisinol türevi ile fonksiyonlandırılmış fenolftalein tabanlı bir ligand (L) sentezlenerek alkol-su ortamında farklı katyonlara karşı optik özellikleri floresans spektroskopisi ile incelendi.

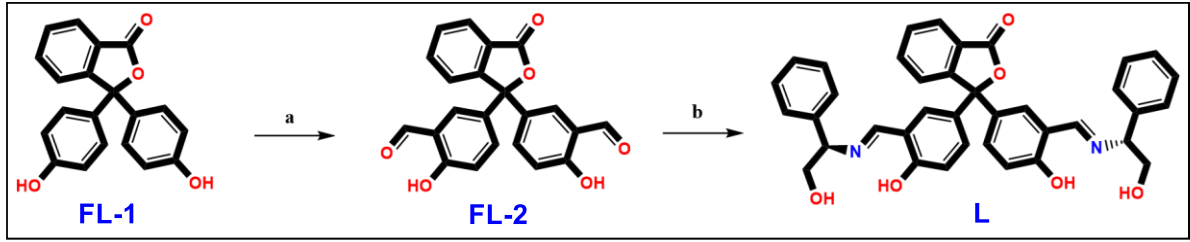
MATERYAL VE YÖNTEM (MATERIAL AND METHOD)

Kimyasallar ve Cihazlar (Chemicals and Equipment)

Sentezlenen moleküllerin yapısının karakterizasyonu için Varian marka 400 MHz NMR spektrometresi ile gerçekleştirildi. FT-IR spektrumu analizleri PerkinElmer marka Spectrum 100 FTIR spectrometer modeli kullanıldı. Sentezler sırasında, Merck marka Kieselgel 60 F₂₅₄ ince tabaka kromatografisi kullanılarak reaksiyonlar takip edildi. Floresans çalışmaları Perkin Elmer marka LS55 spektrometresi cihazı kullanıldı. UV-GB çalışmaları PG instruments marka T80 UV/VIS spectrophotometer modeli ile gerçekleştirildi. Çalışma sırasında kullanılan tüm kimyasal ve reaktifler analitik kalitede olun, Merck, Sigma Aldrich, Alfa Aesar, ISOLAB firmasından alındı.

Fenolftalein Tabanlı Ligandın Sentezlenmesi (L) (Synthesis of phenolphthalein-based Ligand (L))

Bu çalışmada yapılması hedeflenen fenolftalein tabanlı ligandın sentezlenmesi için Şekil 1'de verilen sentez şeması literatürdeki yöntemlere göre takip edildi (Erdemir ve Malkondu, 2019). Elde edilen aldehit türevi içeren fenolftalein 2 (FL-2) türevinin (R)-(-)-2-fenilglisinol ile reaksiyonu sonucunda fenolftalein tabanlı ligand L elde edildi. İlgili reaksiyon prosedürleri aşağıda verildi.



Şekil 1. Fenolftalein tabanlı ligand L'nin sentez şeması (a) HMTA, TFA (b) (R)-(-)-2-fenilglisinol, etanol
Figure 1. Synthesis scheme of phenolphthalein-based ligand L (a) HMTA, TFA (b) (R)-(-)-2-phenylglycinol, ethanol

1 g (3,14 mmol) fenolftalein (FL-1) ve 1,32 g (4,71 mmol) HMTA 30 mL TFA içerisinde 8 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon süresi tamamlandıktan sonra 1 M HCl çözeltisi ile maddenin çökmesi sağlandı ve DCM ile ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Organik faz tamamen uzaklaştırıldıktan sonra kalan katı etanol-su sisteminde yeniden kristallendirildi (Erdemir ve Malkondu, 2019). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.11 (s, 2H, Ar-OH), 10.23 (d, *J* = 3.1 Hz, 2H, CHO), 7.95 – 7.91 (m, 1H, ArH), 7.84 (dddd, *J* = 13.4, 7.7, 2.3, 1.1 Hz, 2H, ArH), 7.69 – 7.65 (m, 1H, ArH), 7.52 (t, *J* = 2.8 Hz, 2H, ArH), 7.44 (dt, *J* = 8.8, 2.9 Hz, 2H, ArH), 7.04 (dd, *J* = 8.7, 2.6 Hz, 2H, ArH).

0,2 g FL-2 (0,53 mmol) ve 0,3664 g (R)-(-)-2-fenilglisinol (2,67 mmol) 30 mL etanol içerisinde geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon İTK ortamında reaktantların tamamen tükenmesinden sonra soğutuldu. Çöken malzeme süzüldü, etanol ile yıkandı ve kurutuldu. Sarı bir katı olarak 0,162 g ligand L elde edildi. FTIR (ATR-cm⁻¹): 3412 (O-H), 1753 (C = O), 1630 (HC = N). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,87 (s, 2H, Ar-OH), 8,60 (s, 2H, -CHN), 7,92 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH), 7,89 – 7,81 (m, 2H, ArH), 7,70 – 7,62 (q, *J* = 7.3, 6.2 Hz, 1H, ArH), 7,44 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H, ArH), 7,38 – 7,30 (t, *J* = 5.8 Hz, 8H, ArH), 7,27 (dt, *J* = 11.9, 6.0 Hz, 4H, ArH), 6,90 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, ArH), 4,91 (d, *J* = 119.6 Hz, 2H, CH₂-OH), 4,45 – 4,33 (m, 2H, Ar-CH-CH₂), 3,69 – 3,62 (m, 4H, CH-CH₂-OH).

Çözeltilerin Hazırlanması ve Katyon Algılama Çalışması (Preparation of Solutions and Studies of Cation Sensing)

Katyonların algılanması için kullanılacak olan L bileşiğinin çözeltisi 10⁻² M olacak şekilde DMSO içerisinde hazırlandı. Floresans çalışmaları için bu stok çözeltilerden seyreltilerek 5x10⁻⁷ M olacak şekilde etanol-su sisteminde (95/5, v/v) oda sıcaklığında kullanıldı. İncelenecek olacak katyonların (Li⁺, Na⁺, Cs⁺, Ag⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Sr²⁺, Ba²⁺, Hg²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Cr³⁺, Al³⁺) perklorat tuzlarının 10⁻² M olacak şekilde asetonitril içerisinde hazırlandı. Floresans çalışmaları uygun miktarda metal ve ligand içeren 3 mL çözelti hacminde gerçekleştirildi.

Floresans, ¹H-NMR Titration ve DFT Analiz Çalışmaları (Fluorescence, ¹H-NMR Titration and DFT Analysis Studies)

Floresans titrasyon çalışması için etanol-su sisteminde (95/5, v/v) L bileşiği 5x10⁻⁷ M konsantrasyonunda hacmi 3 mL olacak şekilde hazırlandı. Bu çözelti üzerine floresans titrasyonunu gerçekleştirmek için belirli hacimlerde katyon tuzu çözeltisi ilave edilerek 0-60 eşmolar aralığındaki çözeltilerin floresans spektrumları alındı ¹H-NMR titrasyon çalışması için fenolftalein tabanlı L çözeltisi 0,07 M olacak şekilde DMSO-*d*₆ çözeltisi hazırlanarak üzerine DMSO-*d*₆ içerisinde çözülmüş katyon tuzu çözeltisi 3 kat olacak şekilde Varian marka 400 MHz NMR spektrometresinde oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

Ligand L ve Zn²⁺ katyonu arasındaki kompleks mekanizmasını açıklamak için moleküler modelleme çalışması gerçekleştirildi. Bu amaçla L ve L+Zn²⁺ kompleksinin DFT ve TD-DFT hesaplamaları Q-Chem paket programının demo versiyonu ile B3LYP/6-31 G seviyesinde gerçekleştirildi (Shao ve diğ., 2015).

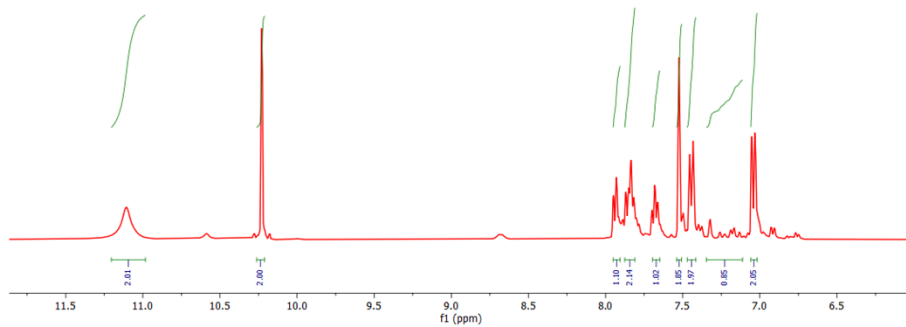
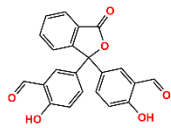
BULGULAR VE TARTIŞMA (RESULTS AND DISCUSSIONS)

Fenolftalein Tabanlı Ligand L'nin Sentezi ve Karakterizasyonu (Synthesis of Phenolphthalein-Based Ligand L and Their Characterization)

Ağır metallerin oluşturduğu kirliliklerin hızlı ve doğru şekilde tespit edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla geliştirilen optik sensörler sayesinde seçimli, hassas ve güvenilir tespit çalışmaları yapılmaktadır. Floresans sensörler arasında farklı florofor gruplar içeren yapılar sayesinde ağır metallere karşı algılama çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

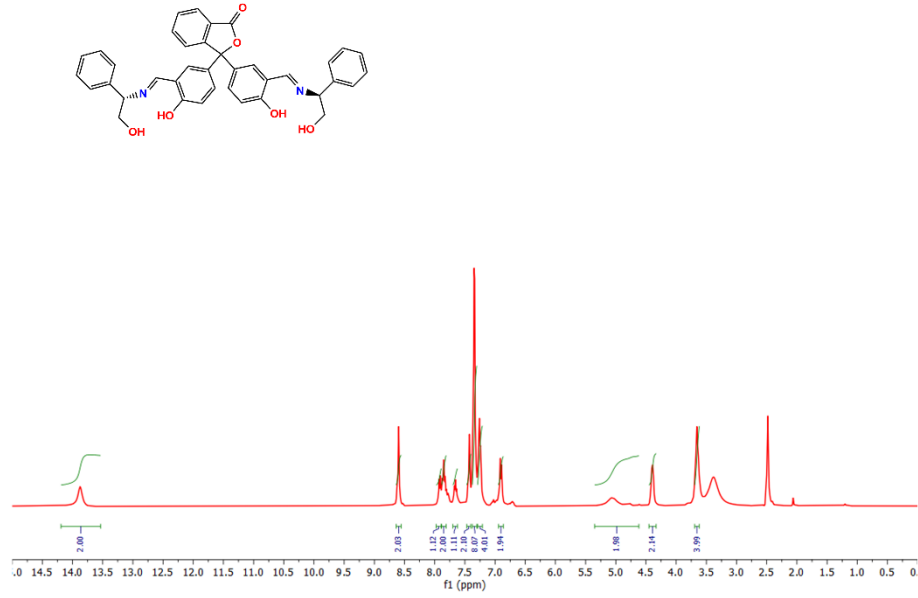
Bu çalışmada (*R*)-(-)-2-fenilglisinol ile fonksiyonlandırılmış fenolftalein tabanlı ligand L hazırlanarak farklı katyonlara karşı optik özellikleri incelendi. Öncelikle temel fenolftalein bileşiği FL-1'in aldehit türevi olan FL-2 türevini elde etmek için TFA ortamında HMTA ile reaksiyonu gerçekleştirildi ve elde edilen FL-2 türevinin ¹H-NMR spektrumu Şekil 2'de verildi. ¹H-NMR spektrumunda yapıya eklenen aldehit (-CHO) grubunun 10,23 ppm'deki 2H büyüklüğündeki pik sayesinde aldehit grubu ile fonksiyonlandırılmış FL-2'nin yapısı doğrulandı.

Sonrasında FL-2 türevinin (*R*)-(-)-2-fenilglisinol ile Schiff bazı reaksiyonu sonucunda hedeflenen ligand L sentezlendi ve yapısı ¹H-NMR spektroskopisi ile karakterize edildi ve spektrumu Şekil 3'te verildi. Elde edilen ligand L'nin ¹H-NMR spektrumunda aldehit ve primer amin grupları arasındaki kondenzasyon reaksiyonu sonucunda 8,64 ppm'de CH=N Schiff bazı (imin yapısı) grubuna ait bir pik oluştuğu görüldü. Ayrıca 5,20 ppm'de fenilglisinol yapısındaki alifatik OH grubuna ait, 4,45 ppm'de kiral bölgeye ait ve 3,69 ppm'de OCH₂ grubuna ait piklerin oluşması yapıyı doğruladı. Sentezlenen ligand L'nin yapısı FT-IR spektroskopisi ile yapısı incelendi ve CH=N Schiff bazı (imin yapısı) grubuna ait 1630 cm⁻¹'deki pik ile yapı doğrulandı (Şekil 4).

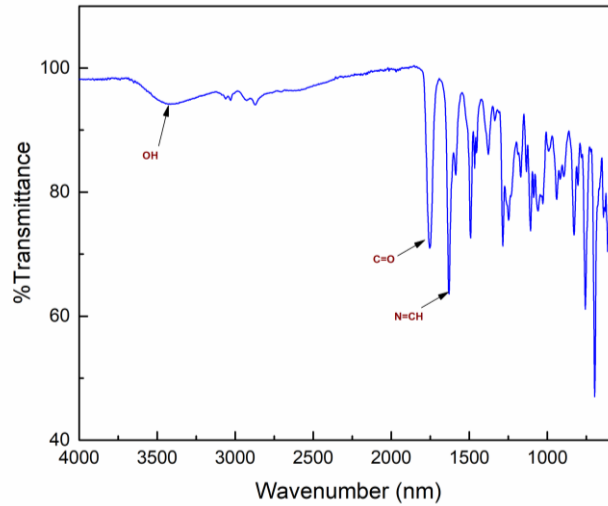


Şekil 2. FL-2 türevinin ¹H-NMR spektrumu

Figure 2. ¹H-NMR spectrum of FL-2 derivative



Şekil 3. Ligand L'nin ¹H-NMR spektrumu
Figure 3. ¹H-NMR spectrum of ligand L

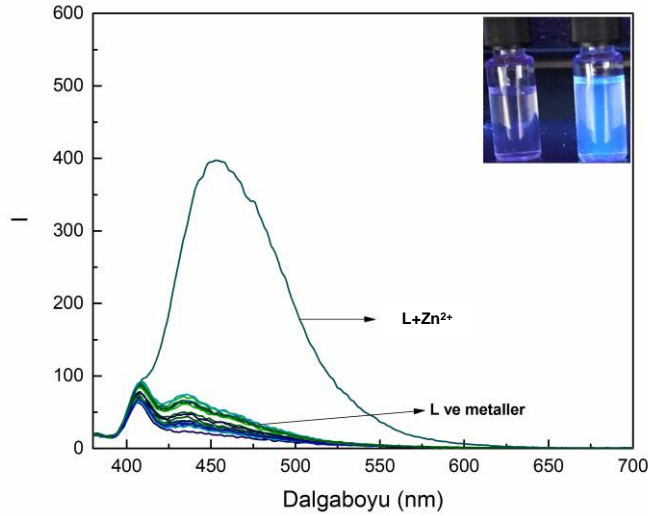


Şekil 4. Ligand L'nin FT-IR spektrumu
Figure 4. FT-IR spectra of ligand L

Kasyon Algılama Çalışmaları (Cation sensing studies)

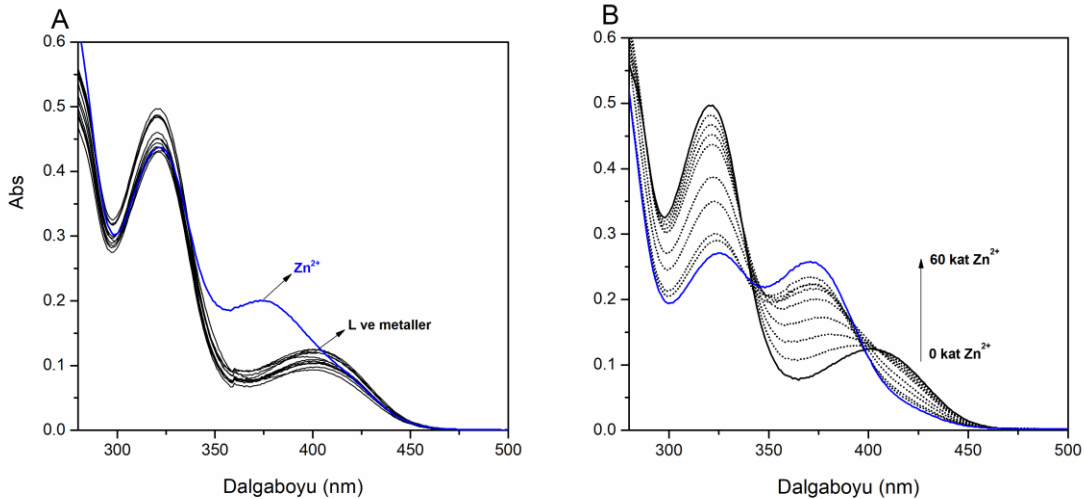
Hazırlanan fenolftalein tabanlı ligand L bileşiği ile farklı katyonlara karşı (Li^+ , Na^+ , Cs^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} , Al^{3+}) algılama çalışması ligand L konsantrasyonu 5×10^{-7} M olacak şekilde etanol-su (95:5/v:v) ortamında çalışması gerçekleştirildi. Elde edilen floresans şiddetindeki değişim grafiği Şekil 5'te verildi. Bu ortamda 375 nm'de uyarılması sonucunda ligand L'nin floresans spektrumu incelendiğinde PET, ICT ve C=N izomerisasyonundan kaynaklı olarak zayıf şiddette bir floresans yaptığı görülmektedir. Ligand L üzerine 10 eşmolar olacak şekilde metal çözeltileri ilave edildiğinde yalnızca Zn^{2+} katyonuna karşı 454 nm'de şiddetli floresans yaptığı, diğer metallerle karşı floresans şiddetinin yine zayıf kaldığı görülmektedir. Şelatlama grupları olan C=N ve C=O gruplarının geçiş metallerine karşı yüksek affiniteye sahip olduğu bilinmektedir (Erdemir ve Tabakci, 2018). Dolayısıyla bu çalışmada da ligand L'nin Schiff bazı yapısındaki C=N

grubundaki azot donörünün Zn^{2+} katyonu ile etkileşmesiyle meydana gelen kompleksleşme sonucu ICT ve C=N izomerizasyonunun engellenmesiyle ligand L'nin floresans şiddetinin arttığı sonucuna varıldı. Ayrıca ligand L'nin spektral özelliklerinin incelenmesi için 5×10^{-5} M konsantrasyonda etanol-su (95:5/v:v) ortamında UV-GB ölçümleri gerçekleştirildi. Şekil 6.A'da verilen farklı katyonlara karşı Ligand L'nin spektrum değişimi incelendi. Bu farklı katyonlar içerisinde sadece Zn^{2+} katyonuna karşı spektrumunda değişiklik olduğu ve 375 nm'de bir pik oluşturduğu gözlemlendi. Hazırlanan ligand L'nin etanol-su (95/5, v/v) ortamında 5×10^{-5} M konsantrasyonundaki çözeltisi üzerine 0-60 eşmolar olacak şekilde Zn^{2+} katyon çözeltisi ilave edilerek floresans spektrumundaki değişiklikler kaydedildi ve Şekil 6.B'de verilen UV-GB spektrumları elde edildi. Bu spektrum incelendiğinde ise 375 nm'deki pikin Zn^{2+} ilave ettikçe yükseldiği görülmektedir ve bu durumu floresans spektroskopisi ile uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 5. Ligand L'nin etanol-su (95/5, v/v) ortamında farklı katyonlara karşı floresans spektrumundaki değişim $[L]= 5 \times 10^{-7}$ M, $[M]= 5 \times 10^{-6}$ M ($\lambda_{em}= 375$ nm, λ_{em} slit=8 nm, λ_{ex} slit=8 nm)

Figure 5. Fluorescence spectra change ligand L in presence of various cations in ethanol-water (95/5, v/v) media $[L]= 5 \times 10^{-7}$ M, $[M]= 5 \times 10^{-6}$ M ($\lambda_{em}= 375$ nm, λ_{em} slit=8 nm, λ_{ex} slit=8 nm)

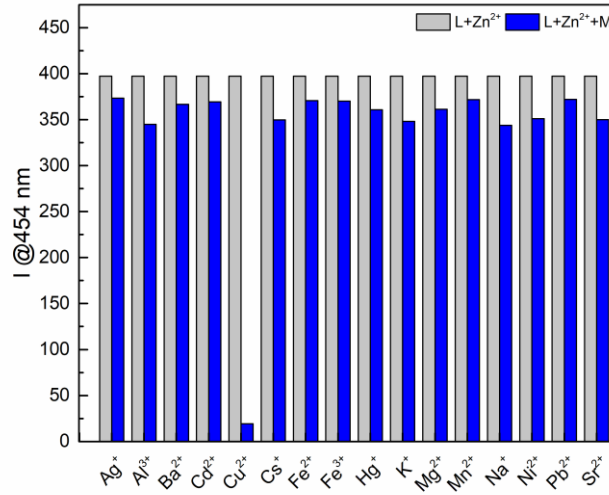


Şekil 6. Ligand L'nin etanol-su (95/5, v/v) ortamında (A) 1 eşmolar'daki farklı katyonlara karşı ve (B) Zn^{2+} katyonu (0-60 eşmolar) titrasyonu UV-GB spektrumundaki değişim $[L]= 5 \times 10^{-5}$ M

Figure 6. UV-VIS spectra change ligand L (A) in presence of various cations and (B) towards of Zn^{2+} cation (0-60 eq) titration in ethanol-water (95/5, v/v) media $[L]= 5 \times 10^{-7}$ M

Literatürde Sanchez ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada hazırlanmış oldukları (R)-(-)-2-fenilglisinol bağlı Schiff bazı türevi bir floresans malzemenin katyonlara karşı algılama çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada alkol-su karışımı olan ortamda Zn^{2+} katyonuna karşı seçimli bir malzeme olduklarını belirlemişler ve yaptıkları 1H -NMR titrasyonu çalışmasında Schiff bazına ait olan piklerde kaymaya neden olduğunu ve floresans mekanizmasında ICT mekanizmasının önemli bir rol oynadığını belirlemişlerdir (Sanchez ve diğ. 2015).

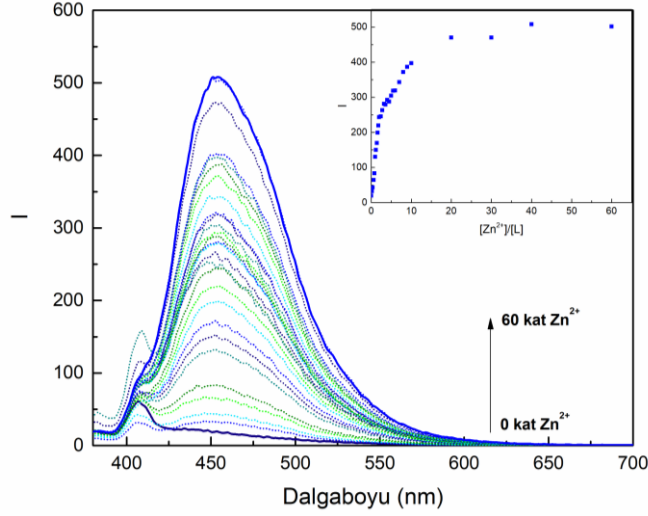
Bu çalışmada ise hazırlanan fenolftalein tabanlı ligand L'nin farklı katyonlara tekil olarak bakıldığında 454 nm'de etanol-su ortamında Zn^{2+} katyonuna karşı seçimli olduğu belirlendi. Algılama çalışmasında diğer katyonların ligand L'nin Zn^{2+} ile kompleksi ($L+Zn^{2+}$) ile elde edilen spektrumun diğer katyonların varlığındaki değişimi incelendi. Hazırlanan $L+Zn^{2+}$ kompleksi üzerine 10 eşmolar farklı katyonların çözeltilerinin ilavesi sonucunda oluşan floresans şiddetindeki değişimler Şekil 7'te verildi. Burada, hazırlanan ligand L ile Zn^{2+} ile kompleksinin farklı katyonların ilavesi durumunda Cu^{2+} ile oluşan floresans şiddetinin tamamen sönmüldüğü görülmektedir.



Şekil 7. Ligand L'nin etanol-su (95/5, v/v) ortamında ($5 \times 10^{-7} M$) Zn^{2+} (10 eşmolar) varlığında farklı katyonlar (10 eşmolar) ilave edildiğinde floresans şiddetindeki değişimler ($\lambda = 454$ nm, $\lambda_{em} = 375$ nm, λ_{em} slit=8 nm, λ_{ex} slit=8 nm)

Figure 7. Fluorescence intensity changes of ligand L ($5 \times 10^{-7} M$) for Zn^{2+} (10 eq) in presence of various cations (10 eq) in ethanol-water (95/5, v/v) media ($\lambda = 454$ nm, $\lambda_{em} = 375$ nm, λ_{em} slit=8 nm, λ_{ex} slit=8 nm)

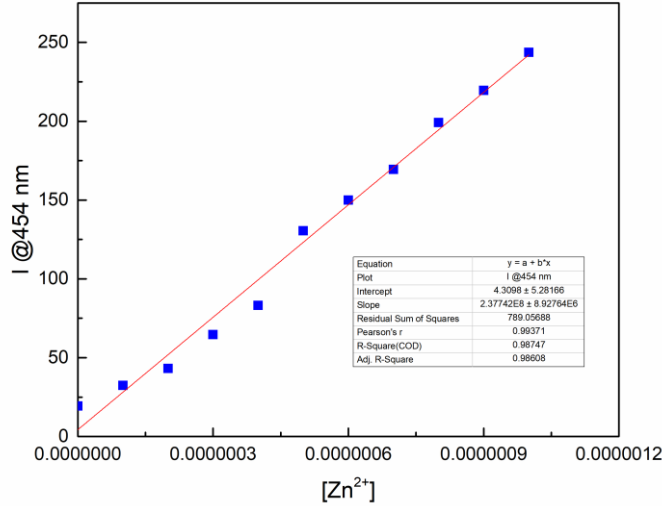
Ligand L ve Zn^{2+} katyonu arasındaki etkileşimleri daha iyi incelemek amacıyla floresans titrasyon çalışması gerçekleştirildi. Hazırlanan ligand L'nin etanol-su (95/5, v/v) ortamında $5 \times 10^{-7} M$ konsantrasyonundaki çözeltisi üzerine 0-60 eşmolar olacak şekilde Zn^{2+} katyon çözeltisi ilave edilerek floresans spektrumundaki değişiklikler kaydedildi ve Şekil 8'da görülen floresans spektrumları elde edildi. Spektrumlardan 454 nm'deki en yüksek floresans şiddeti değerinin Zn^{2+} katyonu ilave edildikçe öncelikle lineer şekilde arttığı, yüksek miktarlarda ise bu artışın hızının azalarak sabitlendiği görülmektedir.



Şekil 8. Ligand L'nin etanol-su (95/5, v/v) ortamında (5×10^{-7} M) Zn^{2+} katyonu (0-60 eşmolar) titrasyonu floresans spektrumları ve grafiği ($\lambda_{em}=375$ nm, λ_{em} slit=8 nm, $\lambda_{ex}=8$ nm)

Figure 8. Fluorescence spectra of ligand L (5×10^{-7} M) towards of Zn^{2+} cation (0-60 eq) titration in ethanol-water (95/5, v/v) media ($\lambda_{em}=375$ nm, λ_{em} slit=8 nm, $\lambda_{ex}=8$ nm)

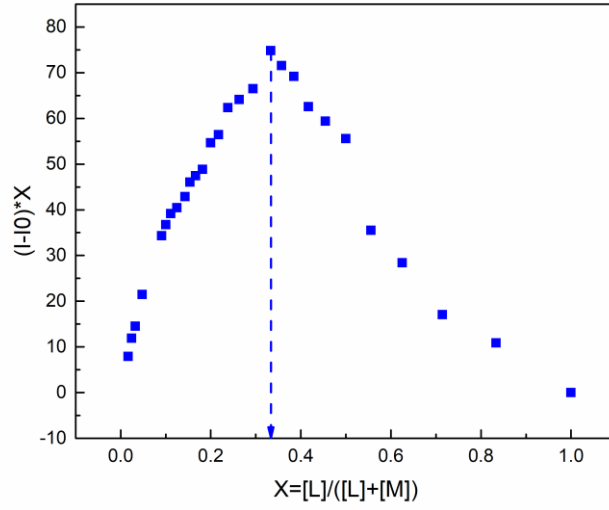
Titrasyon çalışması sonucunda elde edilen veriler kullanılarak Zn^{2+} konsantrasyonuna karşı floresans şiddeti grafiği çizildi ve Şekil 9'de verildi. Bu grafiğin lineer kısmındaki veriler kullanılarak limit algılama (LOD) değeri, $LOD=3SS/m$ formülü kullanılarak $1,18 \times 10^{-7}$ M (118 nM) olarak hesaplandı. Burada SS grafiğin standart sapmasını, m ise grafiğin eğimini ifade etmektedir.



Şekil 9. Farklı konsantrasyonlardaki Zn^{2+} katyonuna karşı floresans şiddetindeki değişim

Figure 9. The graph of change in fluorescence intensity towards Zn^{2+} cation in different concentrations

Ligand L ile Zn^{2+} katyonu arasındaki kompleksin stokiyometrisini belirlemek için Job grafiği titrasyon verileri kullanılarak çizildi (Şekil 10). Elde edilen veriler incelendiğinde mol fraksiyonunun tepe noktasının 0,33 değerinde olması kompleksleşmenin 1:2 oranında gerçekleştiğine işaret etti. Böylece hazırlanan fenoltalein tabanlı ligand L'nin yapısındaki iki tane fenilglisinol grubu varlığının ligand L'nin Zn^{2+} katyonu ile bu oranda kompleks yapabileceği beklentisi de doğrulanmıştır.

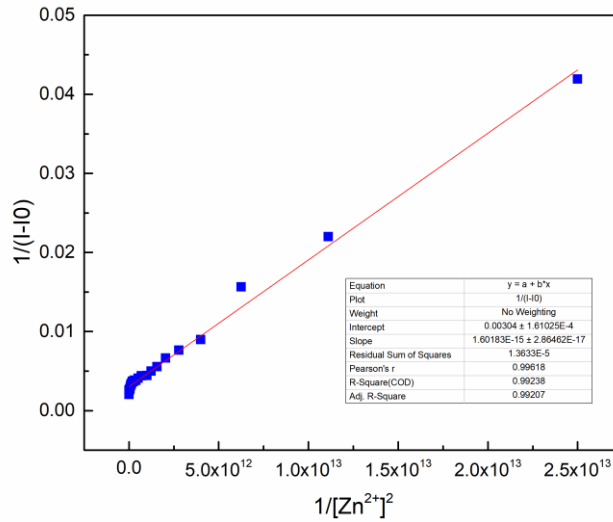


Şekil 10. Ligand L+ Zn²⁺ kompleksi için Job grafiği
Figure 10. Job's plot for Ligand L+ Zn²⁺ cation complex

Bağlanma katsayısının hesaplanması için titrasyon verileri kullanılarak Benesi-Hildebrand denklemi ile bağlanma katsayısı (K) hesaplandı.

$$\frac{1}{I - I_0} = \frac{1}{\{K(I_{\max} - I)[Zn^{2+}]_n\}} + \frac{1}{(I_{\max} - I_0)}$$

Burada, I_0 değeri ilk floresans şiddeti, I katyon ilave edildikten sonraki floresans şiddeti, I_{\max} elde edilen maksimum absorbans değeri ve K bağlanma katsayısı ($1/M$) olarak ifade edilmiştir. Bağlanma sabiti (K), $1/[Zn^{2+}]^2$ değerine karşılık $1/(I-I_0)$ grafiğinin eğimi kullanılarak hesaplandı ve Şekil 11'de verildi. Buna göre bağlanma sabiti $1,72 \times 10^{12}$ ($\log K = 12,24$) olarak hesaplandı.

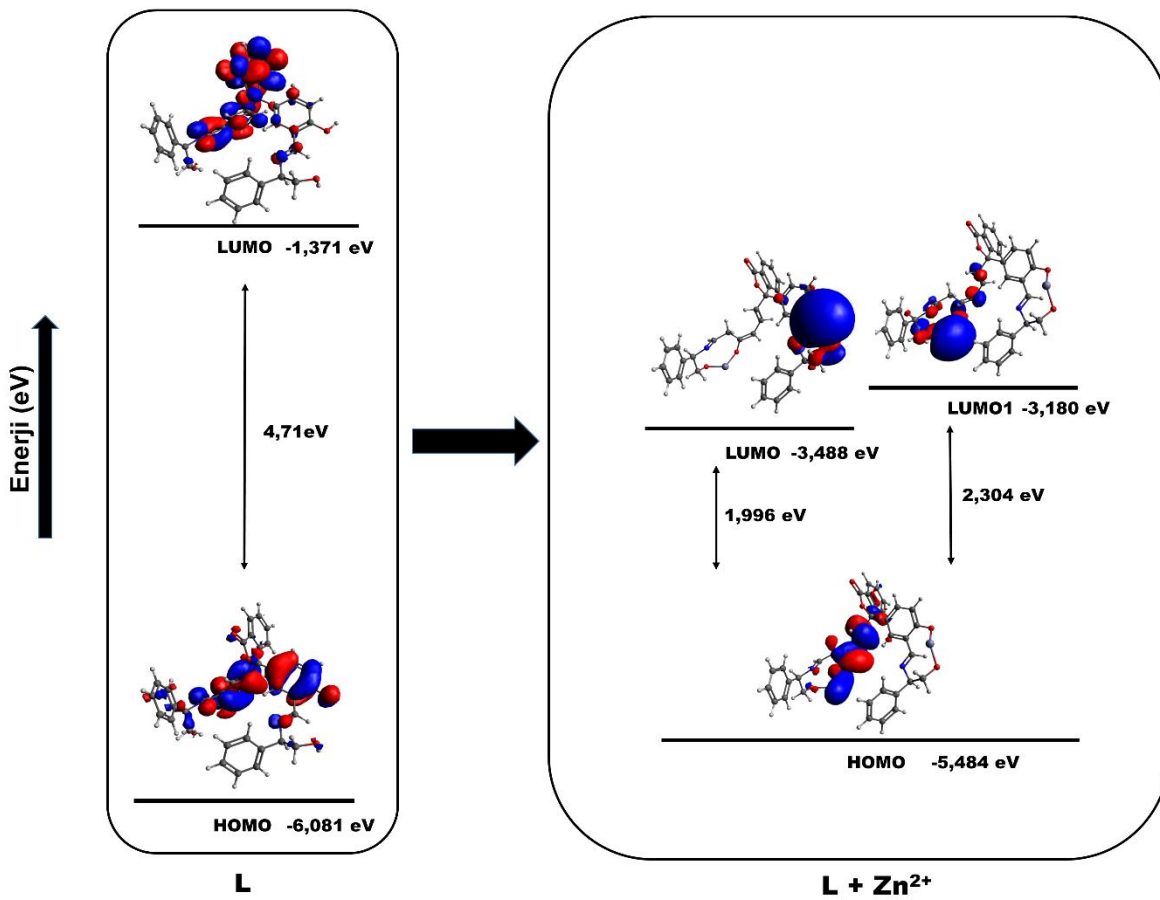


Şekil 11. Ligand L+ Zn²⁺ kompleksi için Benesi-Hildebrand grafiği
Figure 11. Benesi-Hildebrand plot for Ligand L+ Zn²⁺ cation complex

DFT Analizi ve $^1\text{H-NMR}$ Titrasyon Çalışması (DFT Analysis and $^1\text{H-NMR}$ titration study)

Hazırlanan fenolftalein tabanlı ligand **L** ile Zn^{2+} katyonu arasında kompleksleşme mekanizması ICT ve $\text{C}=\text{N}$ izomerizasyonunu incelemek için DFT analizi gerçekleştirildi. Analiz sonucunda ligand **L** ile Zn^{2+} katyonu arasında kompleksin oluşturduğu HOMO-LUMO orbitallerinin enerji seviyeleri Şekil 12’de verildi.

Ligand **L** için HOMO elektronları fenolftalein yapısının fenolik birimleri üzerinde dağılırken LUMO elektronlarının ise spiro lakton halkası ve fenol yapıları üzerinde dağıldığı görüldü ve bu gösterim, olası ICT mekanizmasına da işaret etmektedir. Kompleksleşme sonrasında ise HOMO-LUMO seviyelerinin Schiff bazı (imin) grubu üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Ligand **L** için ΔE değeri 4,71 eV ve $\text{L}+\text{Zn}^{2+}$ kompleksinin ΔE değeri 1,996 eV olarak hesaplandı. Enerji seviyeleri için bu düşüşün, kompleksleşme ve ICT mekanizmasının engellenmesi sayesinde olduğu şeklinde yorumlandı.

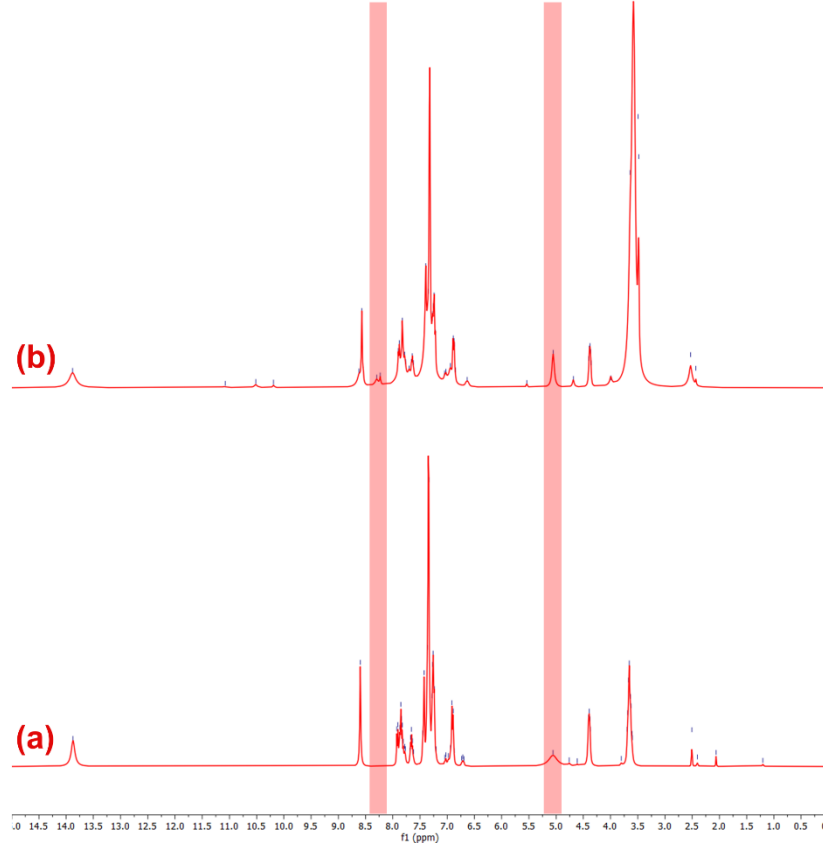


Şekil 12. Ligand **L** ve $\text{L}+\text{Zn}^{2+}$ kompleksinin HOMO-LUMO enerji seviyeleri ve moleküler orbitallerinin gösterimi

Figure 12. Presentation of molecular orbitals and energy levels of HOMO-LUMO of ligand **L** and $\text{L}+\text{Zn}^{2+}$ complex

$^1\text{H-NMR}$ titrasyon çalışması için ligand **L** ve Zn^{2+} katyonu ile titrasyon çalışması $\text{DMSO-}d_6$ çözücüsü içerisinde Zn^{2+} katyonu 3 eşmolar olacak şekilde gerçekleştirildi ve $^1\text{H-NMR}$ spektrumundaki değişim Şekil 13’te verildi. Ligand **L** çözeltisi üzerine 3 eşmolar Zn^{2+} katyonu ilavesiyle 8,3 ppm civarında yeni bir pik oluştuğu ve bu pikin yapıdaki imin ($-\text{CHN}$) gruplarına ait piklerin oluşması ile gerçekleştiğine işaret etmektedir. Ligand **L** yapısında fenil glisinol grubundaki $-\text{OH}$ gruplarına ait 5,2 ppm’deki pikin kompleks gerçekleştikten sonra daha sivri bir pik haline gelmesi kompleksleşmede oksijendeki bağ yapmamış elektronların Zn^{2+} katyonu ile etkileşimine yorumlanmıştır. Öyle ki kompleksleşme öncesi $-\text{OH}$ gruplarına ait pikin hidrojen bağları sebebiyle kısmen yayvan çıkmasına neden olmuş, kompleksleşme

sonrası ise oksijen üzerindeki elektronların Zn^{2+} katyonunu tercih etmesi mevcut hidrojen bağı etkileşimlerinin önemli ölçüde zayıflamasına ya da ortadan kalmasına neden olmuş ve böylece $-OH$ gruplarına ait pik keskin bir görünüm kazanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada floresans şiddetindeki artışa neden olan ligand $L-Zn^{2+}$ kompleksleşmesinde Ligand L yapısı üzerindeki hem imin hem de hidroksil gruplarının etkili olduğu görülmüştür.



Şekil 13. (a) Ligand L ve (b) $L+Zn^{2+}$ kompleksinin 1H -NMR spektrumu
Figure 13. 1H -NMR spectrum of ligand L (a) and $L+Zn^{2+}$ complex (b)

SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Bu çalışmada, hazırlanan fenolftalein tabanlı ligand L bileşiğinin farklı katyonlara karşı optik özellikleri floresans spektroskopisi ile incelendi. Katyonlar arasından seçimli olarak Zn^{2+} katyonuna karşı etanol-su (95/5, v/v) ortamında 454 nm’de şiddetli bir floresans elde edilmesi hazırlanan ligand L ’nin Zn^{2+} katyonu için bir floresans sensör olduğunu gösterdi. Elde edilen sensörün LOD değeri $1,18 \times 10^{-7}$ M (118 nM) olarak hesaplandı. Ligand L ile Zn^{2+} arasındaki etkileşimin floresansa etkisi, ligand L yapısında gerçekleşen ICT, PET ve C=N izomerizasyonu süreçlerinden kompleksleşme sonrasında ICT mekanizması ve C=N izomerizasyonunun engellenmesi sonucu floresans şiddetinde önemli bir artış olduğu şeklinde yorumlandı. Kompleksleşmede ligand L yapısındaki imin ve hidroksil gruplarının başlıca rol aldığı 1H NMR titrasyon ve DFT çalışmaları ile kanıtlandı. Sonuç olarak bu çalışmada hazırlanan ligand L ’nin Zn^{2+} katyonu için verimli ve etkin bir floresans sensör olabileceği ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

Alici, O, Aydın, D, 2021 “A Schiff-base receptor based on phenolphthalein derivate appended 2-furoic hydrazide: Highly sensitive fluorogenic “turn on” chemosensor for Al^{3+} ”, *Journal of Photochemistry*

- and *Photobiology A: Chemistry*, vol. 404, pp. 112876.
- Bie, F., Cao, H., Yan, P., Cui, H., Shi, Y., Ma, J, Liu, X., Han, Y., 2020, "A cyanobiphenyl-based ratiometric fluorescent sensor for highly selective and sensitive detection of Zn²⁺", *Inorganica Chimica Acta*, vol. 508, pp. 119652.
- Erdemir, S., Kocyigit, O., 2017, "A novel dye based on phenolphthalein-fluorescein as a fluorescent probe for the dual-channel detection of Hg²⁺ and Zn²⁺", *Dyes and Pigments*, vol. 145, pp. 72 – 79.
- Erdemir, S., Kocyigit, O., 2018, "Dual recognition of Zn²⁺ and Al³⁺ ions by a novel probe containing two fluorophore through different signaling mechanisms", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 273, pp 56 – 61.
- Erdemir, S., Malkondu, S., 2019, "Dual-emissive fluorescent probe based on phenolphthalein appended diaminomaleonitrile for Al³⁺ and the colorimetric recognition of Cu²⁺" *Dyes and Pigments*, vol 163, pp 330 – 336.
- Erdemir, S., Malkondu, S., Kocyigit, O., 2019, "A reversible calix[4]arene armed phenolphthalein based fluorescent probe for the detection of Zn²⁺ and an application in living cells", *The Journal of Biological and Chemical Luminescence*, vol. 34, pp. 106 – 112.
- Erdemir, S., Tabakci, B., 2017, "Selective and Sensitive Fluorescein-Benzothiazole Based Fluorescent Sensor for Zn²⁺ Ion in Aqueous Media", *Journal of Fluorescence*, vol. 27, pp. 2145 – 2152.
- Erdemir, S., Tabakci, B., 2018, "Highly sensitive fluorometric detection of Zn²⁺ ion by calix[4]arene derivative appended 4-biphenylcarbonitrile", *Dyes and Pigments*, vol. 151, pp. 116 – 122.
- Fu, J., Chang, Y., Li, B., Wang, X., Xie, X., Xu, K., 2020, "A dual fluorescence probe for Zn²⁺ and Al³⁺ through differentially response and bioimaging in living cells", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 225, pp 117493.
- Helal, A., Rashid, M. H., Choi, C., Kim, H. 2021, "New regioisomeric naphthol-substituted thiazole based ratiometric fluorescence sensor for Zn²⁺ with a remarkable red shift in emission spectra", *Tetrahedron*, vol. 68, pp. 647 – 653.
- Hojitsiriyant, J., Chaibuth, P., Boonkitpatarakul, K., Ruangpornvisuti, V., Palaga, T., Chainok, K., Sukwattanasinitt, M., 2021, "Effects of amino proton and denticity of quinolone-pyridine based dyes on Cd²⁺ and Zn²⁺ fluorescence sensing properties", *Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry*, vol. 415, pp. 113307.
- Jimenez-Sanchez, A., Ortiz, B., Navarrete, V. O., Flores, J. C., Farfan, N., Santillan, R., 2015, "A dual-model fluorescent Zn²⁺/Cu²⁺ ions sensor with *in-situ* detection of S²⁻/(PO₄)⁻ and colorimetric detection of Fe²⁺ ion", *Inorganica Chimica Acta*, vol 429, pp 243 – 251.
- Joseph, R., Ramanujam, B., Pal, H., Rao, C. P., 2008, "Lower rim 1,3-di-amide-derivative of calix[4]arene possessing bis-{N-(2,2'-dipyridylamide)} pendants: a dual fluorescence sensor for Zn²⁺ and Ni²⁺", *Tetrahedron Letters*, vol 49, pp 6257 – 6261.
- Liu, J., Meng, X., Duan, H., Xu, T., Ding, Z., Liu, Y., Lucia, L. 2016, "Two Schiff-base fluorescence probes based on triazole and benzotriazole for selective detection of Zn²⁺", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol 227, pp 296 – 303.
- Maity, D., Mukherjee, A., Mandal, S. K., Roy, P., 2019, "Modulation of fluorescence sensing properties of quinolone-based chemosensor for Zn²⁺: Application in cell imaging studies", *Journal of Luminescence*, vol. 210, pp 508 – 518.
- Nunes, M. C., Carlos, F. d. S., Fuganti, O., Galindo, D. D. M., De Boni, L., Abate, G., Nunes, F. S., 2020, "Turn-on fluorescence study of a highly selective acridine-based chemosensor for Zn²⁺ in aqueous solutions", *Inorganica Chimica Acta*, vol. 499, pp. 119191.
- Park, G. J., Lee, M. M., You, G. R., Choi, Y. W., Kim, C., 2014, "A turn-on and reversible fluorescence sensor with high affinity to Zn²⁺ in aqueous solution", *Tetrahedron Letters*, vol. 55, pp. 2517 – 2522.
- Rajasekaran, D., Venkatachalam, K., Periasamy, V., 2020, "A bisphenol based fluorescence chemosensor for the selective detection of Zn²⁺ and PPI ions and its bioluminescence imaging", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 242, pp 118730.

- Roy, N., Dutta, A., Mondal, P., Paul, P. C., Singh, T. S., 2016, "A new coumarin based dual functional chemosensor for colorimetric detection of Fe³⁺ and fluorescence turn-on response of Zn²⁺", *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol 236, pp 719 – 731.
- Sasaki, H., Hanaoka, K., Urano, Y., Terai, T., Nagano, T., 2011, "Design and synthesis of a novel fluorescence probe for Zn²⁺ based on the spirolactam ring-opening process of rhodamine derivatives", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol.19, pp 1072 – 1078.
- Shao, Y. ve diğ., 2015, "Advances in molecular quantum chemistry contained in the Q-Chem 4 program package", *Molecular Physics*, vol. 113, pp. 184-215.
- Tabakci B., Ahmed, H. M. A., Erdemir, S., 2019, "Fast and Reversible "Turn on" Fluorescent Sensors Based on Bisphenol-a for Zn²⁺ in Aqueous Solution", *Journal of Fluorescence*, vol. 29, pp. 1049 – 1087.
- Venkatesan, V., R. Kumar, S., Kumar, S. K. A., Sahoo, S. K., 2019, "Highly selective turn-on fluorogenic chemosensor for Zn²⁺ based on chelation enhanced fluorescence", *Inorganic Chemistry Communications*, vol. 102, pp. 171 – 179.
- Wang, R., Wang, N., Tu, Y., Liu, G., Pu, S., 2018, "A new fluorescence based on diarylethene with a N'-(quinolin-8-ylmethylene)benzohydrazide group for Zn²⁺ detection", *Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry*, vol. 364, pp. 32 – 39.
- Xu, T., Duan, H., Wang, X., Meng, X., Bu, J., 2015, "Fluorescence sensors for Zn²⁺ based on conjugated indole Schiff base", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 138, pp 603 – 608.
- Zhu, J., Zhang, Y., Chen, Y., Sun, T., Tang, Y., Huang, Y., Yang, Q., Ma, D., Wang, Y., Wang, M., 2017, "A Schiff base fluorescence probe for highly selective turn-on recognition of Zn²⁺", *Tetrahedron Letters*, vol. 58, pp. 365 – 370.