



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



HİDRAZİN TESPİTİ İÇİN REAKTİF BAZLI
FLORESAN SENSÖRLERİN
GELİŞTİRİLMESİ

Muhammed Yasir ULUTAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Aralık-2022
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİDRAZİN TESPİTİ İÇİN REAKTİF BAZLI FLORESAN SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Muhammed Yasir ULUTAŞ

**Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Özgür SAF

2022, 53 Sayfa

Jüri

**Prof. Dr. Ahmet Özgür SAF
Prof. Dr. Sabri ALPAYDIN
Prof. Dr. İlkay Hilal GÜBBÜK**

Hidrazin (N_2H_4), endüstride ve çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılan oldukça kararsız ve toksik bir maddedir. Bundan dolayı hidrazinin seçici, hassas ve hızlı bir şekilde tespit edilmesi oldukça önemlidir. Hem çevredeki hem de biyolojik sistemlerdeki N_2H_4 'ün tespit edilmesi için farklı mekanizma ve alıcı gruplara dayalı olarak birçok floresan sensör geliştirilmiştir.

Bu çalışmada, hidrazin tespiti için florofor grup olarak benzotiyazol, ayrılan grup olarak ftalimid içeren 2-(2-(benzo[d]tiazol-2-il) fenil) izoindolin-1,3-dion (BTF) sensörü sentezlenmiştir. Sentezlenen floresan sensör 1H -NMR, ^{13}C -NMR ve FT-IR ile karakterize edilmiştir. Sensörün seçicilik çalışmaları çeşitli anyonların (ClO_4^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , AcO^- , Br^- , SO_4^{2-} , I^-), kationların (Cu^{2+} , Na^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+}), biyolojik moleküllerin (Üre, L-Glutasyon, Prolin) ve aminlerin (Amonyak, Trietilamin, Dietilamin, Hekzametildiamin, 1-Naftilmetilamin, 3-Metoksiropilamin) eklenmesiyle gerçekleştirilmiş ve sensörün yalnız hidrazine karşı seçici davrandığı belirlenmiştir. Sensörün floresans yoğunluğu, hidrazin miktarının kademeli olarak artırılmasıyla artmıştır. Sensör 200 eşdeğer hidrazin varlığında 200 dakika sonunda dengeye ulaşmıştır. Sensörün minimum tespit limiti (LOD) $46,03 \mu M$ olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, sensörün farklı pH'lardaki performansı incelenerek floresans yoğunluğunun pH 7.4'te maksimum olduğu görülmüştür. Çözelti ve gaz fazındaki hidrazinin görsel olarak tespiti için TLC test şeritleri hazırlanmış ve iyi algılama sonuçları elde edilmiştir. N_2H_4 ile sensör arasındaki mekanizma HPLC tekniğiyle ortaya konulmuştur. Sensördeki ftalimid grubunun N_2H_4 ilavesiyle bileşikten ayrıldığı ve PET mekanizması yoluyla floresans ışımının olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hidrazin, hidrazin tespiti, floresans spektroskopisi, floresan sensör, benzotiyazol

ABSTRACT

MS THESIS

**DEVELOPMENT OF REAGENT-BASED
FLUORESCENT SENSORS FOR THE DETECTION OF
HYDRAZINE**

Muhammed Yasir ULUTAŞ

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY**

Advisor: Prof. Dr. Ahmet Özgür SAF

2022, 53 Pages

Jury
Prof. Dr. Ahmet Özgür SAF
Prof. Dr. Sabri ALPAYDIN
Prof. Dr. İlkay Hilal GÜBBÜK

Hydrazine (N₂H₄) is a highly unstable and toxic substance widely used in industry and various fields. Therefore, selective, sensitive and rapid detection of hydrazine is very important. Many fluorescent sensors have been developed based on different mechanisms and acceptor groups for the detection of N₂H₄ in both environmental and biological systems.

In this study, 2-(2-(benzo[d]thiazol-2-yl) phenyl) isoindolin-1,3-dione (BTF) sensor containing benzothiazole as fluorophore group and phthalimide as leaving group was synthesized for hydrazine detection. The synthesized fluorescent sensor was characterized by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and IR. The sensor's selectivity studies are conducted on various anions (ClO₄⁻, Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, AcO⁻, Br⁻, SO₄²⁻, I⁻), cations (Cu²⁺, Na⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ba²⁺, Zn²⁺), biological molecules (Urea, L-Glutathione, Pyrroline) and amines (Ammonia, Triethylamine, Diethylamine, Hexamethylenediamine, 1-Naphthylmethylamine, 3-Methoxypropylamine) and it was determined that the sensor acts selectively only against hydrazine. The fluorescence intensity of the sensor increased with the gradual increase of the amount of hydrazine. The sensor reached equilibrium after 200 minutes in the presence of 200 equivalents of hydrazine. The minimum limit of detection (LOD) of the sensor was calculated as 46,03 µM. In addition, the performance of the sensor at different pHs was examined, and it was seen that the fluorescence intensity was maximum at pH 7.4. TLC test strips were prepared for visual detection of hydrazine in solution and gas phases and good detection results were obtained. The mechanism between N₂H₄ and the sensor was revealed using HPLC. It was determined that the phthalimide group in the sensor was separated from the compound by the addition of N₂H₄ and there was fluorescence through the PET mechanism.

Keywords: Hydrazine, hydrazine detection, fluorescence spectroscopy, fluorescent sensor, benzothiazole

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Necmettin Erbakan Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Ahmet Özgür SAF yönetiminde hazırlanmış ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'na yüksek lisans tezi olarak sunulmuştur.

Öncelikle Yüksek Lisans eğitimim boyunca tez çalışmamın danışmanlığını yürüten ve tez konusunun seçiminde, hazırlanmasında, laboratuvar olanaklarının sağlanmasında ve araştırmamın yürütülmesi ve tamamlanması süresince desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet Özgür SAF'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen, bilgi, öneri ve deneyimleriyle bana yön veren kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mustafa DURMAZ ve Sayın Doç. Dr. Serdal KAYA'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Aynı laboratuvarı paylaştığım arkadaşlarım Sayed Mustafa BADR ve Osman MOLLA'ya tezimin her aşamasında sağladıkları yardım ve destekler için teşekkür ederim.

Son olarak, hayatım boyunca bana her konuda yardımcı olan ve beni destekleyen aileme sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Muhammed Yasir ULUTAŞ
KONYA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Floresans Olayının Temelleri.....	2
1.2. Floresan Sensörler.....	5
1.2.1. Floresan Sensörlerin Yapısı	5
1.3. Hidrazin Sensörlerinin Algılama Stratejileri	6
1.3.1. Koruma Kaldırma	11
1.3.1.1. Asetil Koruma Grubu.....	12
1.3.1.2. 4-Bromobütiril Koruma Grubu.....	12
1.3.1.3. Tiyofen-2-Karbonil Koruma Grubu.....	13
1.3.1.4. Levulinil Koruma Grubu	13
1.3.1.5. Ftalimid Koruma Grubu.....	14
1.4. Hidrazinoliz	15
1.5. Tezin Amacı.....	15
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1. Materyaller ve Ekipmanlar	24
3.2. Stok Çözeltilerin Hazırlanması ve Optik Ölçümler.....	24
3.3. Sensörün Sentezi ve Karakterizasyonu.....	25
3.3. Hidrazin Algılama Uygulamaları.....	26
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	27
4.1. Sensörün Karakterizasyonu	27
4.2. Çözücü Seçimi	28
4.2.1. Çözücü Sisteminin Etkisi.....	30
4.3. Absorpsiyon ve Floresans Spektrumları	31
4.3.1. Hidrazin Derişimi	31
4.3.2. pH Etkisi	34
4.3.3. Zaman Çalışması (Algılama Süresi).....	34
4.3.4. Tespit Sınırı (LOD).....	35

4.4. Seçicilik Çalışmaları	36
4.5. Sensörün Hidrazini Algılama Mekanizması	38
4.6. Sensör Uygulamaları.....	40
4.6.1. Test Şeritleri.....	40
4.6.2. Gaz Fazı Testi	41
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	42
5.1. Sonuçlar	42
5.2. Öneriler	43
6. KAYNAKLAR	44
EKLER	49

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

A	: absorbans
δ	: kimyasal kayma değeri
g	: gram
v / v	: hacim/hacim
J	: etkileşim sabiti
K	: sabit
λ	: dalgaboyu
λ_{em}	: emisyon dalgaboyu
λ_{ex}	: uyarma dalgaboyu
μL	: mikrolitre
μM	: mikromolar
m	: multipler
mg	: miligram
mL	: mililitre
mM	: milimolar
mmol	: milimol
nm	: nanometre
ppb	: parts per billion (milyarda bir birim)
ppm	: parts per million (milyonda bir birim)
σ	: boş ölçümün standart sapması
S	: eğim
V	: volt

Kısaltmalar

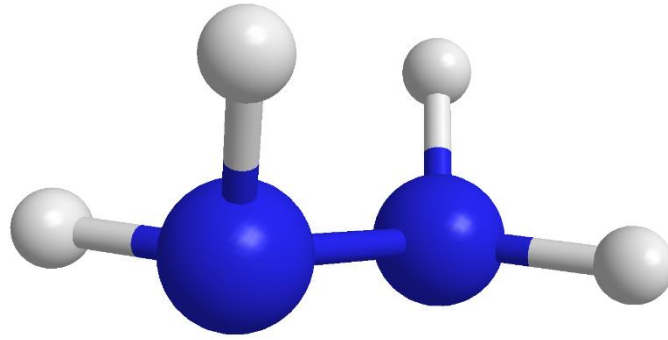
BODIPY	: Boron-Dipyrromethene
CDCl_3	: Dötero Kloroform
CHCl_3	: Kloroform
CV	: Döngüsel Voltametri
DL	: Detection Limit (Algılama Limiti)
DMF	: Dimetilformamid
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EtOH	: Etil alkol
MeOH	: Metil alkol
EPA	: ABD Çevre Koruma Ajansı
ESIPT	: Uyarılmış Durum Molekül İçi Proton Transferi
FRET	: Floresans Rezonans Enerji Transferi
FT-IR	: Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi
H_2O	: Su
HOMO	: En Yüksek Dolu Moleküler Orbital
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ICT	: Molekül İçi Yük Transferi
LOD	: Algılama Limiti
LUMO	: En Düşük Dolu Olmayan Moleküler Orbital
MeCN	: Asetonitril

N ₂ H ₄	: Hidrazin
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuzlu Su
PET	: Fotoindüklenmiş Elektron Transferi
RGB	: Kırmızı-Yeşil-Mavi
PMT	: Foto-Çoğaltıcı Tüp
THF	: Tetrahidrofur
TMS	: Tetrametilsilan
UV	: Ultraviyole
UV-vis	: Ultraviyole Visible Spektroskopisi

.

1. GİRİŞ

Hidrazin, amonyak kokusuna benzeyen berrak, renksiz, son derece reaktif, uçucu ve yanıcı bir moleküldür (Manna, Gangopadhyay, Maiti, Mondal ve Mahapatra, 2019). Ortaklanmamış elektron çiftine sahip iki azot ve süstitüe edilebilir dört hidrojen atomu içerir. Hidrazin α -etkisi nedeniyle güçlü indirgenebilirliğe, yüksek bazikliğe ve suda iyi çözünürlüğe sahiptir (Yan, Zhang, Xie, Mu ve Zhu, 2020). Su ile karışarak hidrazin hidratı oluşturur. Hidrazin hidrat, susuz hidrazinden daha karardır ve parafin kaplı sızdırmaz kaplarda ayrışmadan birkaç yıl saklanabilir. Hidrazin hidrat, fizikokimyasal özelliklerinin birçoğunda susuz hidrazine benzese de ikisi arasında fiziksel olarak farklılıklar vardır. Bu, hidrazinin hidratlı formda su ile karışmasından kaynaklanır (K. C. Patil (Editor), 2014). Hidrazin molekülünün yapısı Şekil 1.1'de gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Hidrazin molekülünün yapısı

Dünyada hidrazin üretimi yaklaşık 200.000 tondur. Hidrazin, jet motoru ve roket yakıtı, antioksidan, indirgeyici ajan, katalizör, yakıt hücresi reaktanı, polimer çapraz bağlama ajanı ve zincir uzatıcı, CO₂ tutucu, pestisit ve ilaç hammaddesi olarak kullanılır (Yan ve diğerleri, 2020). Emülgatörlerin, korozyon inhibitörlerinin ve tekstil boyalarının hazırlanmasında kullanılır (Cui, Ji, ve diğerleri, 2014). Böcek ilaçlarında ve bitki büyüme düzenleyicilerinde kullanılır (Maji ve diğerleri, 2016). Termoplastik kalıplama işleminde benzoilhidrazin kullanılır. Etilhidrazin, anti-korozif etkisi için kullanılır. Fenilhidrazin ise boyaların imalatında kullanılır (Bela Toth, 2021).

Hidrazine uzun süre maruz kalmak karaciğer hasarına, metabolik anormalliğe, hiperlipidemiye, DNA hasarına, hepatotoksisteye ve kansere neden olur (Yan ve diğerleri, 2020). Hidrazin, suda çözünürlüğü nedeniyle deri altı ve solunum yoluyla biyolojik sistemler tarafından kolayca emilir (Lu, Fan, Shi, Lu ve Fan, 2017). Bu da geçici

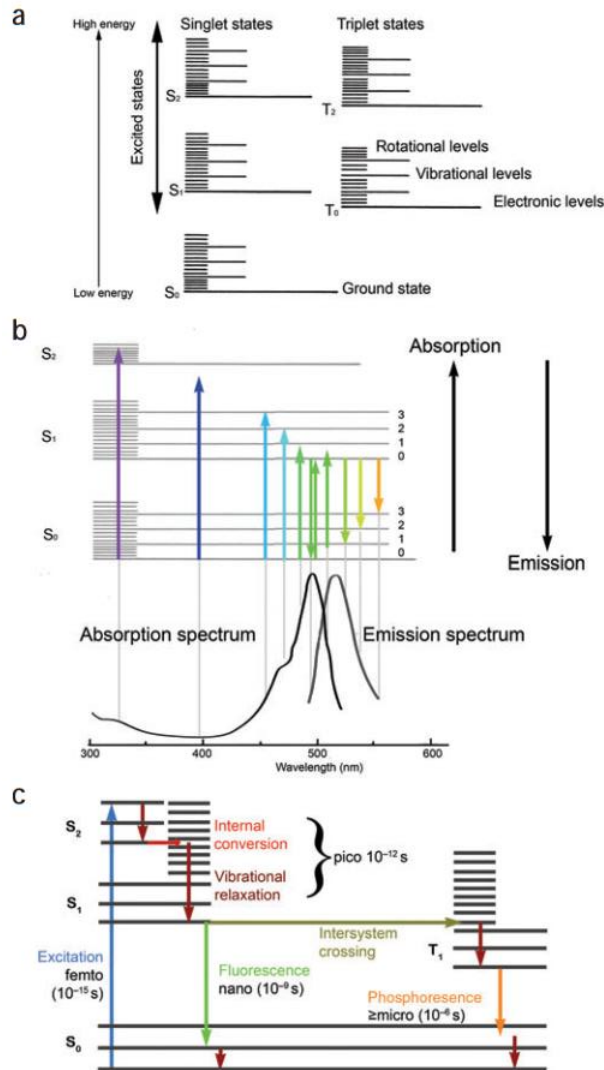
körlük, baş dönmesi, mide bulantısı, alerji ve yanıklarına neden olur (Yan ve diğerleri, 2020). Proteinlerde ve nükleik asitlerin yapısında ciddi bozulmalara neden olur (Du ve diğerleri, 2020).

Hidrazin tespitinde; kromatografik teknikler, kromatografi-kütle spektrometrisi, yüzeyi güçlendirilmiş raman spektroskopisi, kılcal elektroforez, potansiyometri, amperometri (Roy ve Bandyopadhyay, 2018), akış enjeksiyonu, elektrokimyasal algılama, elektrokatalizör gibi teknikler kullanılmaktadır (Yan ve diğerleri, 2020). Bu tekniklerin çoğunda, zorluk oluşturan uzun işlem süresi ve pahalı ölçüm aletlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak floresan sensörler bu dezavantajlardan yoksundur ve hidrazin tespiti için kolay, düşük maliyet, yüksek seçicilik (Roy ve Bandyopadhyay, 2018), yüksek hassasiyet, hızlı yanıt, yerinde algılama veya izleme ve basit hazırlık gibi avantajlar sunmaktadır (T. Liu ve diğerleri, 2020).

1.1. Floresans Olayının Temelleri

Lüminesans, belirli dalga boyundaki bir ışığın madde tarafından absorbe edildiği ve daha uzun dalga boyunda yayıldığı bir süreçtir. Bu süreçte maddeden yayılan ışığın dalga boyu, gelen ışığın değil, maddenin özelliğinden kaynaklanmaktadır. Maddeden yayılan ışık, görünür, ultraviyole veya kızıl ötesi bölgede olabilir (Siraj ve diğerleri, 2016). Lüminesans, floresans ve fosforesans olarak iki başlık altında ele alınır. Bu ayrım, ışık yayan molekülün uyarılmış halden sonraki emisyon mekanizmasının farklılığından kaynaklanmaktadır (Sencer Selçuk, 2010).

1933'te Polonyalı fizikçi Aleksander Jablonski, birçok organik bileşiğe özgü lüminesans olgusunu tanımlamak için üç enerji seviyeli bir diyagram önermiştir (Xu, Liu, Zhou, Yang ve Li, 2018). Jablonski diyagramı, bir dizi diferansiyel oran denklemi ile molekül içi ve moleküller arası elektronik geçişleri tanımlar (Zimmermann, Zeug ve Röder, 2003). Molekülün ışınla uyarılmasından sonraki temel elektronik geçişlerini özetleyen basit bir Jablonski diyagramı Şekil 1.2'de gösterilmiştir. Şekil 1.2'deki diyagramda, molekülün çeşitli enerji seviyeleri bir dizi yatay çizgi ile gösterilmektedir. Temel durum, birinci, ikinci ve n'inci elektronik uyarılmış durumlar sırasıyla S_0 , S_1 , S_2 ve S_n olarak gösterilmektedir. Benzer şekilde uyarılmış triplet durum T_1 , T_2 olarak gösterilir.

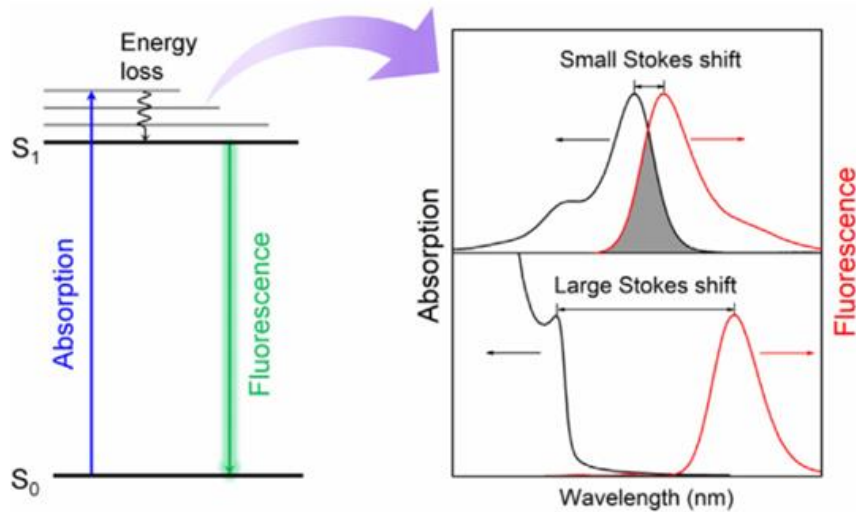


Şekil 1.2. Bir molekülün enerji durumlarını gösteren Jablonski diyagramı, (b) Bir molekül tarafından enerjinin absorbe edilmesi ve emisyonu ile ilgili spektral özellikler, (c) Floresans uyarma, emisyon ve fosforesansta geçen süreler (Lichtman ve Conchello, 2005).

Her elektronik durumun titreşim alt enerji seviyeleri, artan enerji sırasına göre 0, 1, 2 titreşim kuantum sayıları ile gösterilir (Şekil 1.2a). Elektronun enerji durumları arasındaki geçişini içeren süreçler dikey oklarla temsil edilir (Jain, Blum ve Subramaniam, 2009). Yaygın olarak kullanılan bir florofor olan floresin izotiyosiyanat'a ait absorpsiyon ve emisyon spektrumları, Şekil 1.2b'de gösterilmiştir. Floresans uyarma, emisyon ve fosforesansta farklı adımların yer aldığı durum Şekil 1.2c'de şematize edilmiştir. Oklar, fotonların dalga boyunu temsil edecek şekilde renklendirilmiştir. Örneğin, soldaki mor ok, molekülün temel durumdan ikinci uyarılmış duruma geçişine neden olabilen bir ultraviyole fotonun enerjisini temsil etmektedir. Şekil 1.2b'deki sağdaki turuncu ok, bu molekül tarafından en düşük enerjili S_1 durumundan yüksek titreşimli S_0 durumuna geçerken yayılabilecek en düşük enerjili fotonu temsil etmektedir.

Absorpsiyon ve emisyon spektrumlarının örtüşme bölgesinde, titreşim seviyesi en düşük seviyede olamamasına rağmen bazı fotonların absorbe edildiği görülmektedir. Bu durum Şekil 1.2b'deki yukarı yönlü yeşil ok ile gösterilmiştir. Enerjiyi soğurmeyen moleküller ise, temel olarak S_0 temel durumunun en düşük titreşim durumlarıyla sınırlıdır (Lichtman ve Conchello, 2005).

Stokes, floresansı ışığın absorpsiyonundan dolayı bir emisyon süreci olarak doğru bir şekilde tanımlamıştır (Berberan-Santos, 2008). Stokes kayması, absorpsiyon ve emisyon arasındaki enerji kayıplarını ortaya çıkaran floroforların önemli bir özelliğidir (Zhou, Lu, Yang ve Wu, 2019). Maksimum floresans yoğunluğu, uyarılmış haldeki titreşimsel salınım ve çözücü ile etkileşimden kaynaklanan enerji kayıplarının bir sonucu olarak maksimum absorbansa göre her zaman kırmızıya kaymaktadır (Demchenko, 2010). Stokes kaymasının oluşumu Şekil 1.3'te gösterilmiştir.



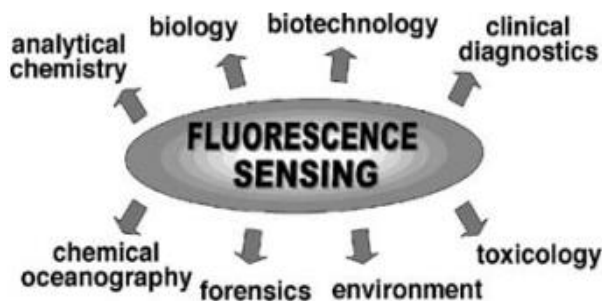
Şekil 1.3. Jablonski enerji diyagramından Stokes kayması mekanizmasının şematik gösterimi (Zhou ve diğerleri, 2019)

Tipik organik boyalarda ve floresan proteinlerde floresans emisyonu, floroforun kendisi tarafından absorbe edilir ve genellikle 50 nm'den daha az Stokes kaymaları gözlenir. Bu da absorpsiyon ve emisyon dalga boyları arasında spektral örtüşme ile sonuçlanır. Kendi kendine absorpsiyon, floroforların optik performansını ciddi şekilde etkileyen tipik bir floresans söndürme mekanizmasıdır (Zhou ve diğerleri, 2019). Floresan boyaların Stokes kaymalarını genişletmek için geliştirilen stratejiler büyük ilgi görmektedir. Özellikle, klinik gereksinimleri karşılamak adına emisyonu kırmızıya kaydırmak için çok çaba harcanmıştır. HOMO-LUMO boşluğunu daraltarak kırmızıya

kayan emisyon gözlemlenebilir ancak öngörülebilir Stokes kayması değişiklikleri gözlemlenemez (Ren ve diğerleri, 2018).

1.2. Floresan Sensörler

Floresans algılama, birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Floresans algılamanın duyarlılık, seçicilik, yanıt süresi ve optik fiberler aracılığıyla uzaktan algılama gibi belirgin avantajları vardır. Floresans algılamanın farklı alanlardaki kullanımını Şekil 1.4.'te gösterilmektedir.



Şekil 1.4. Birçok alanda floresans algılamanın kapsamlı kullanımı (Berberan-Santos, 2008).

Floresan sensör bir türün varlığını, renk değişikliği yoluyla gösterir (Cara, 2009). Floresan sensörlerin çoğu için açma-kapama sinyali, tek bir floresans bandının yoğunluk değişimine dayanır (Lei ve diğerleri, 2021). Bir floresan sensörün performansı seçicilik, hassasiyet, tepki süresi, kullanım ömrü, kararlılık, doğruluk ve yeniden kullanılabilirlik gibi birçok parametreye bağlıdır. Bu nedenle, sensör geliştirme sürecinde tüm bu faktörler gözletilmelidir (Rukiye Ayranc, y.y.).

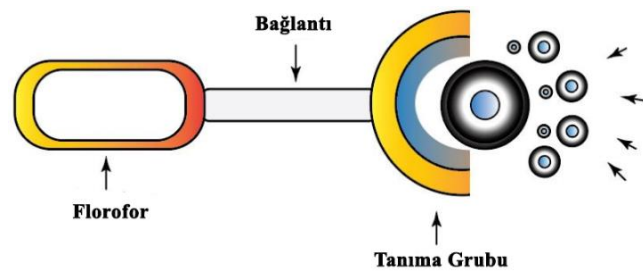
1.2.1. Floresan Sensörlerin Yapısı

Bir floresan sensör, bir analit tanıma grubu ve analit ile tanıma grubu arasındaki ilişkiyi bir floresans çıkış sinyaline dönüştüren bir florofordan oluşur ve bu florofor grubu, elde edilen bilgiyi fotofiziksel özelliklerindeki değişimler türünden bir optik sinyale dönüştürür. Yapıda tanıma grubu ile florofor birbirine konjügedir veya bazı floresan sensörlerde olduğu gibi tanıma grubu ile florofor arasında bir bağlayıcı grup bulunmaktadır (Tunçer, 2021). Bu sensörler genellikle aynı ortamdaki biyomolekülleri,

iyonları veya toksik ağır metalleri hızlı, doğru, kullanımı kolay ve ucuz yöntemlerle tespit etmek için kullanılır. Özellikle yapının moleküler tasarım aşamasında farklı sübstitüentlerin eklenmesi, farklı kimyasal ve fotofiziksel özelliklere sahip floresans uçların sentezine olanak sağlar. Bu amaçla floresans uç olarak, sıklıkla organik boyalar kullanılır. Bu çeşitlilik, muhtemel uygulama yelpazesini büyük ölçüde genişletir (Gülşen, 2018).

Her floroforun floresans yoğunluğu ve dalga boyları, moleküler yapısı ile ilgilidir. Örneğin, serbestçe dönen fonksiyonel gruplar içeren aromatik moleküller, bu fonksiyonel gruplar aracılığıyla enerji kaybederler, bu nedenle serbestçe dönen fonksiyonel gruplara sahip aromatik moleküllerin floresans yoğunluğu olmayanlara göre daha azdır (Masoumeh ASOUMEH HEIBATI, 2019). Bir molekülün floresans ışımı yapması için ilk şart, molekülün UV veya görünür bölge enerjilerini absorbe edebilmesidir. Bu absorpsiyon ne kadar güçlü ise, yayılan floresans ışımının yoğunluğu da o kadar güçlü olur. En düşük enerjili elektronik geçişlere sahip moleküller, yüksek floresans verimlerine sahiptir (Taşkiran, 2005).

Floresan sensörlerin çalışma mekanizması, floresans güçlendirme, floresans söndürme ve spektral kaymalar gibi floresans özelliklerinde çeşitli şekillerde değişikliklere neden olan analit ile spesifik reaksiyonlara dayanır (Xie, Wang, Su ve Rodrigues, 2021). Floresan sensörlerin hedef analiti algılama mekanizması Şekil 1.5'te gösterilmiştir.

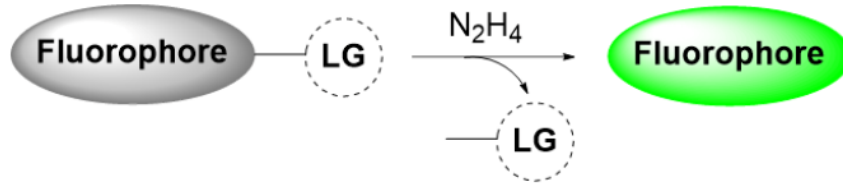


Şekil 1.5. Floresan sensörlerin hedef analiti algılama mekanizması (Pournaki, Fallah, Gülcan ve Gazi, 2021)

1.3. Hidrazin Sensörlerinin Algılama Stratejileri

Geliştirilen hidrazin floresan sensörlerinin çoğu kimyasal reaksiyonlara dayalı olarak tasarlanmaktadır. Bu sensörlerde hidrazinin tanımlanması için asetil, levulinil,

tiyofen-2-karbonil, ftalimid ve 4-bromobütiril gibi gruplar tanıma grupları olarak kullanılmıştır. Şekil 1.6’da hidrazin sensörlerinin genel tasarım stratejisi gösterilmiştir.



Şekil 1.6. Hidrazin sensörlerinin genel tasarım stratejisi (Kaur ve Islamia, 2021)

Tanıma gruplarının genellikle floresan boyalara bağlı olduğu reaktif bazı sensörler, özellikle hidrazin ile reaksiyona girer. Koruma kaldırma, grup dönüşümü, siklizasyon ve halka açma reaksiyonları gibi çeşitli reaksiyonlar, bu tip sensörler için tasarım konseptleri olarak kullanılmıştır. Belirli reaksiyonlardan sonra floresans sinyal değişikliği, hidrazinin varlığını gösterir ve temel olarak hidrazin konsantrasyonu ile pozitif bir ilişki gösterir (X. Y. Zhang, Yang, Wang, Jiao ve Zhu, 2020).

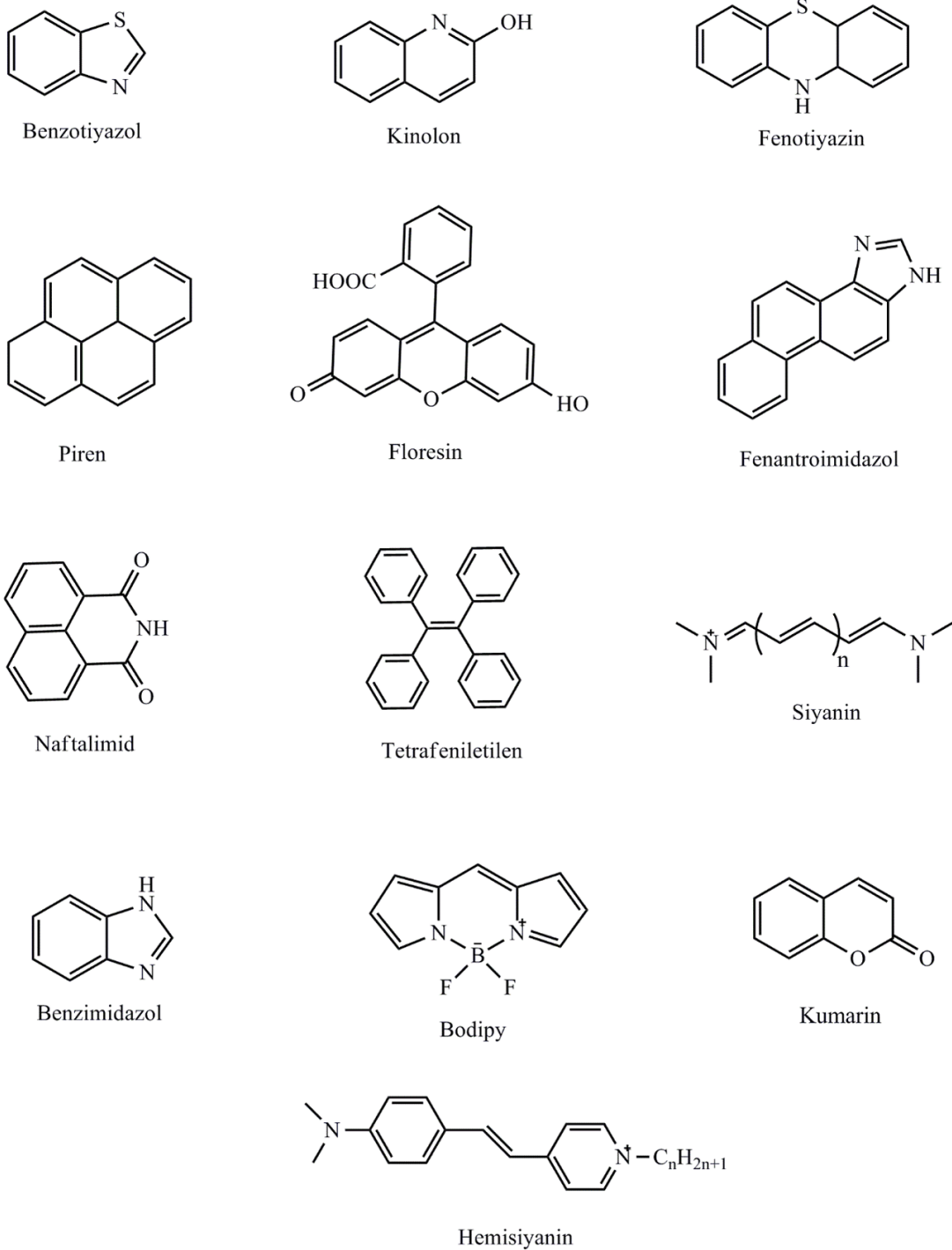
Şekil 1.7’de verilen, siyanin, hemisiyanin, bodipy, floresin, benzotiyazol, kumarin, naftalimid, kinolon, fenotiyazin, benzimidazol, fenantroimidazol, piren ve tetrafeniletillen gibi çok çeşitli floroforlar hidrazin sensörlerinin tasarımında ve sentezinde yaygın olarak kullanılmıştır (J. Liu ve diğerleri, 2020).

Hidrazin sensörleri, bir kimyasal reaksiyonun neden olduğu açma-kapama mekanizması aracılığıyla hidrazini tespit eder. Hidrazin için algılama mekanizmaları genellikle şunlardır: (Kaur ve Islamia, 2021)

- Foto-indüklenmiş Elektron Transferi (PET)
- Molekül İçi Yük Transferi (ICT)
- Uyarılmış Durum Moleküller Arası Proton Transferi (ESIPT)
- Förster Rezonans enerji Transferi (FRET)

Bu algılama mekanizmalarında güçlü nükleofil olan hidrazin, reaksiyon sonunda floresansta değişikliğe yol açar. Elektron veya enerji transferine atfedilen PET, ICT, ESIPT ve FRET gibi algılama mekanizmaları, koruma veya koruma kaldırma yaklaşımıyla ilişkili elektronik özelliklerdeki belirgin değişikliklerle uyumlu olmalıdır. Bu nedenle, koruma veya koruma kaldırma stratejilerine dayanan ve analite duyarlı floresan sensörlerin geliştirilmesi önemlidir. Ek olarak, aynı koruma grubu farklı türler

tarafından kaldırılabilir. Bu nedenle, belirli bir hedef analit için seçicilik sorunu oluşabilir, ancak bu sorun ölçüm koşullarının ayarlanmasıyla giderilebilir (Y. Tang ve diğerleri, 2015).



Şekil 1.7. Hidrazin sensörlerinde yaygın olarak kullanılan floroforlar

ICT mekanizmasına dayanan floresan sensörler, genellikle bir elektron donörü ve elektron alıcısından oluşan bir itme-çekme konjuge sistemleridir (Yan ve diğerleri, 2020).

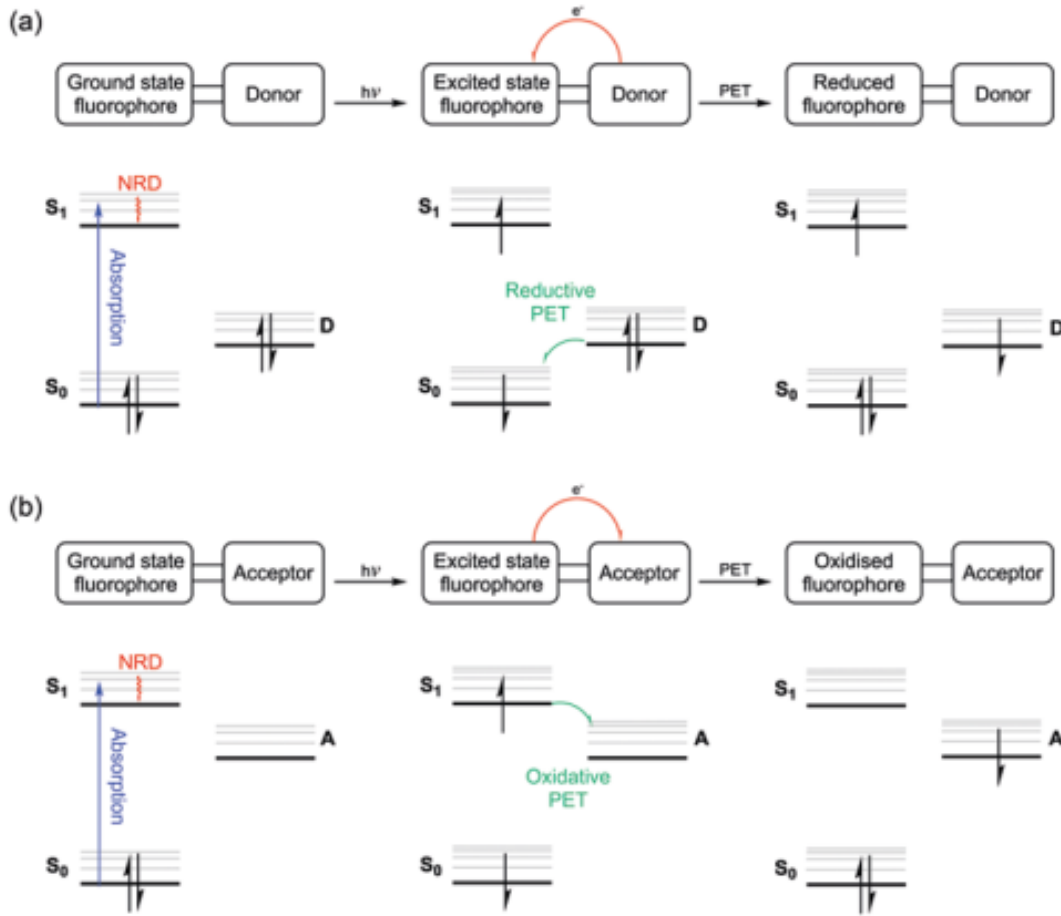
ESIPT, molekül içi veya moleküller arası hidrojen bağı yoluyla floresans değişimini kontrol eden, hidrojen bağında uyarılmış durum protonlarının donörden akseptöre transferini önleyen, floresanda ve emisyon dalga boyunda kolayca değişikliklere yol açabilen bir fotokimyasal floresans mekanizmasıdır (F. Zhang, Du, Jiang, Zhu ve Tian, 2022).

FRET mekanizması, uygun bir akseptörün varlığında donör floroforun uyarılmış durum enerjisini daha düşük enerjili uyarılmış duruma sahip bir akseptör florofora aktarma yeteneğine dayanır. Bu enerji transferi bir foton yayma / soğurma olgusu değildir ve dolayısıyla ışımsal olmayan bir süreçtir (Fu ve Finney, 2018).

PET, uyarılmış bir elektronun donörden (reseptör grubu) florofora aktarıldığı uyarılmış durum elektron transfer işlemidir. Ancak elektron çifti bir protona bağlanırsa, PET artık mümkün değildir ve floresans geri kazanılır. Bu nedenle, tanıma grubu kolayca oksitleniyorsa ve florofor kolayca indirgeniyorsa PET verimliliği yüksektir. Ayrıca PET, kısa dalga boylu floroforlar ve polar çözücüler için daha uygundur (Steinegger, Wolfbeis ve Borisov, 2020). Aromatik bileşikler, PET süreçlerinde elektron alıcıları ve elektron vericileri olarak kullanılmaktadır. PET, uyarılmış florofor biriminin deaktivasyonu için floresans ile rekabete girerek algılama davranışlarında değişikliklere yol açar (Jochen Mattay, 1993). Foto-indüklenmiş elektron transferi (PET), genellikle floresans söndürmede kullanılır ve bitkilerin fotosentezi gibi birçok fotokimyasal reaksiyonda yer alır (Demchenko, 2010). Çoğu durumda bir floroforun floresansı, PET işlemi nedeniyle söndürülür ve PET'in konuk moleküller tarafından engellenmesi yoluyla floroforun floresansı geri kazanılır (Wu, Liu, Ge, Zhang ve Wang, 2011).

PET, oksidatif veya indirgeyici olabilir (Şekil 1.8). İndirgeyici PET'te, elektron transferi bir verici kısımdan uyarılmış florofora gerçekleşir, bu nedenle indirgenir ve floresans söndürülür. Oksidatif PET, uyarılmış florofordan, elektron eksikliği olan oksitlenmiş bir alıcı parçaya elektron transferidir. Bu elektronun enerjisi, floroforun π ve π^* orbitallerinin enerjileri arasında olur, uyarılmış durumun enerjisini düşürür ve π^* ile π gevşemesini ve dolayısıyla floresans emisyonunu bloke eder. Bir floresans geri kazanımı oluşturmak için bir analitin etkileşimi ile PET'in ortadan kaldırılması, yaygın olarak kullanılan bir algılama stratejisidir. Tersine, bir kapatma sensörü oluşturmak için PET söndürme kullanılabilir. PET tabanlı sensörler genellikle bir bağlayıcı aracılığıyla elektron bakımından zengin veya elektron eksikliği olan bir algılama grubuna konjuge edilmiş bir florofordan oluşur. PET söndürme, yalnızca sensörden gelen zayıf floresansa neden olurken, istenen bir analit ile etkileşim floresansta bir iyileşmeye ve dolayısıyla

geri kazanıma neden olur. PET söndürme ne kadar verimli olursa, floresansın geri kazanımı o kadar fazla ve sensör o kadar hassas olur (Elizabeth J. New (Editor), 2022).



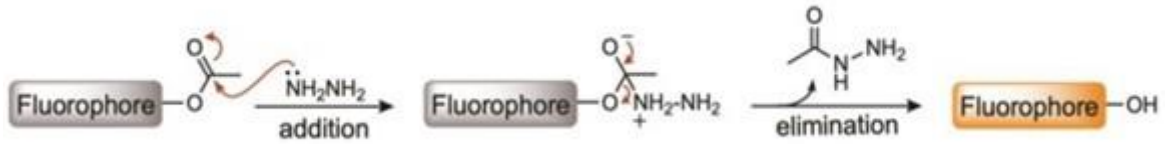
Şekil 1.8. Temsili PET sistemleri ve (a) indirgeyici PET ve (b) oksidatif PET'e maruz kalan moleküller için enerji seviyesi diyagramları (Elizabeth J. New (Editor), 2022)

Hidrazin sensörlerinin mekanizma türlerine göre algılama stratejileri şunlardır: (Roy ve Bandyopadhyay, 2018)

- Koruma kaldırma,
- Disiyano veya monosiyanovinil gruplarının yer değiştirme reaksiyonları,
- 1,3-diketo grubu ile reaksiyonlar,
- Orto-hidroksi aromatik aldehitler ile reaksiyonlar,
- Hemisiyanin sensörlerinde bağlayıcı C=C bağının bölünmesi reaksiyonları.

1.3.1.1. Asetil Koruma Grubu

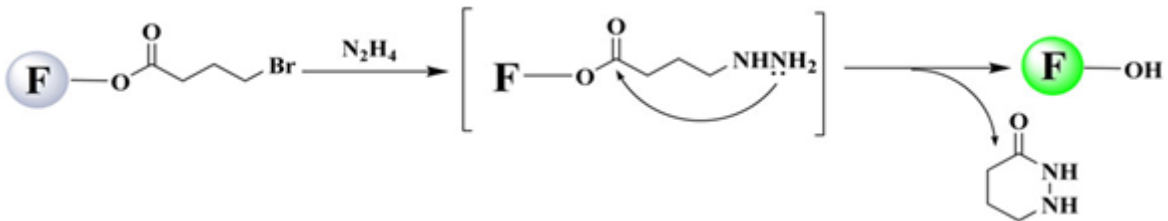
Asetil korumasının kaldırılması, hidrazin sensörlerini tasarlamak için kullanılan en yaygın stratejilerden biridir (Şekil 1.10). Bu strateji, floresan moleküllerinin korunmasından önce ve sonra önemli floresans değişiklikleri nedeniyle farklı türde analitler oluşturmak ve floresan sensörleri tasarlamak için kullanılır. Hidroksil genellikle eterler ve esterler gibi gruplar olarak korunur. Hidroksil korumasının kaldırılmasının ortak özelliği, hidroksil için en yaygın koruma stratejilerinden birinin esterleştirme olduğu hidroksil kısmından hidrojen atomunun çıkarılmasıdır. Son yıllarda, hidrazinin hassas ve seçici olarak izlenmesini sağlamak için hidroksilin korumasının kaldırılmasına dayanan çok sayıda hidrazin sensörü geliştirilmiştir (Gao, Pang, Gao, Shi ve Guo, 2022).



Şekil 1.10. N_2H_4 ile indüklenen asetil korumasının kaldırılması için önerilen mekanizma (Gao ve diğerleri, 2022)

1.3.1.2. 4-Bromobütiril Koruma Grubu

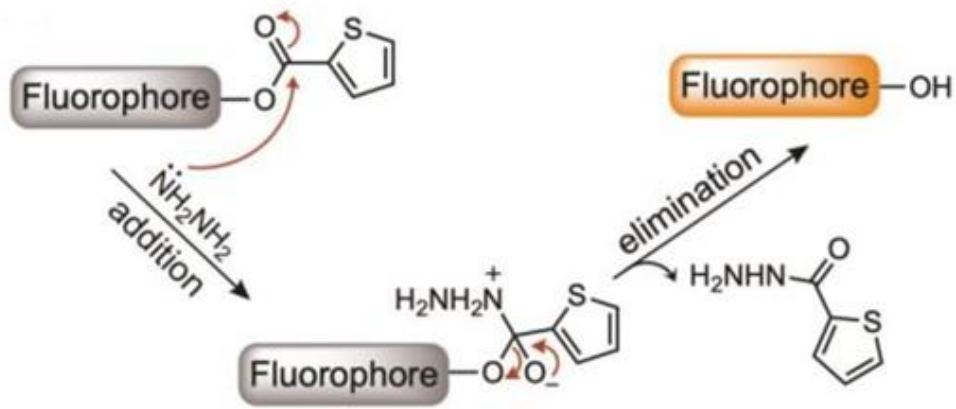
4-bromobütiril grubu hidrazin sensörlerinde koruma kaldırma stratejisi için uygun bir gruptur. 4-bromobütiril, hidrazin sensörlerinde tanıma grupları olarak kullanılır. Bu tanıma grubu olan sensörlere bir nükleofil olan hidrazin ilave edilmesiyle 4-bromobütiril korumasının kaldırılması sağlanır (Şekil 1.11). Böylece, sensörün absorpsiyon ve emisyon özelliklerinde farklılıklar gözlenir. Mekanizma, yer değiştirme tepkimesi üzerinden eliminasyon ve siklizasyon şeklinde ilerler.



Şekil 1.11. Hidrazin ile indüklenen 4-bromobütiril korumasının kaldırılmasının reaksiyon mekanizması (Nguyen ve diğerleri, 2018)

1.3.1.3. Tiyofen-2-Karbonil Koruma Grubu

Tiyofen-2-karbonil koruma grubu da hidrazin sensörleri için koruma kaldırma stratejisinde kullanılmaktadır. Bu türde tasarlanan sensörler genellikle floresan özellik göstermezler ve zayıf emisyon verirler. Ancak N_2H_4 ilave edilmesiyle sensörün floresans yoğunluğunda artışlar kaydedilerek hidrazinin girişim potansiyeli olan farklı türlerin varlığında seçici olarak tanınması sağlanır. Bu sensörlerdeki tiyofen karboksilat bölgesi, keto formlarından hidrazinolize uğrar (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. N_2H_4 ile indüklenen Tiyofen-2-karbonil korumasının kaldırılması için önerilen mekanizma (Gao ve diğerleri, 2022).

1.3.1.4. Levulinil Koruma Grubu

Hidrazin sensörlerinde koruma grubu olarak kullanılan levulinil kısmının koruması, hafif koşullar altında bir hidrazinyum-piridinyum asetat tamponu ile birkaç dakika içinde kaldırılabilir (Gao ve diğerleri, 2022). Levulinoil ester kısmı genellikle organik sentezde fenolik hidroksil grubu için bir koruyucu grup olarak kullanılmıştır ve belirli nükleofilik reaktifler tarafından kolayca bölünebilir. Bu koruma kaldırma reaksiyonu aynı zamanda hidrazinin çift nükleofilik karakterinden yararlanır ve bu nedenle yüksek seçiciliğe sahip floresan hidrazin sensörlerinin tasarımına uyarlanabilir. Levulinat grubunun 4 pozisyonundaki karbonil grubu, birincil nükleofilik atak bölgesidir. Elde edilen hidrazon daha sonra ester karbonili üzerinde molekül içi saldırı gerçekleştirerek ester fonksiyonunun bölünmesine yol açar (Şekil 1.13) (Nguyen ve diğerleri, 2018).

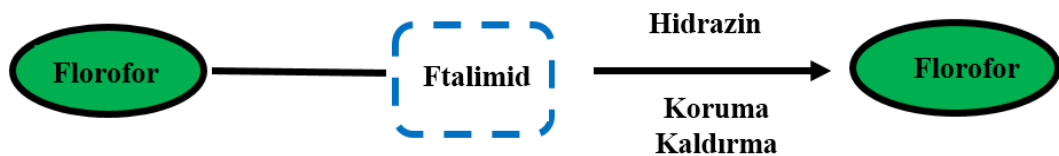


Şekil 1.13. Levulinil korumalı hidrazin sensörlerinin hidrazin eklenerek levulinil korumasının kaldırılmasına ait reaksiyon mekanizması (X. Y. Zhang ve diğerleri, 2020).

1.3.1.5. Ftalimid Koruma Grubu

Ftalimid korumasının kaldırılması, hidrazinin seçici tespiti için kullanılan bir stratejidir. Bu strateji Gabriel sentezine, Ing-Manske hidrazinoliz ilkesine dayanır (Roy ve Bandyopadhyay, 2018). Hidrazin bir bazdır ve güçlü nükleofilik özelliğe sahiptir. Hidrazin, sensörün koruma grubu ile florofor arasındaki bağına atak ederek koruma grubunun yapıdan ayrılmasına ve floroforun floresansının geri kazanılmasına sebep olur (X. Y. Zhang ve diğerleri, 2020).

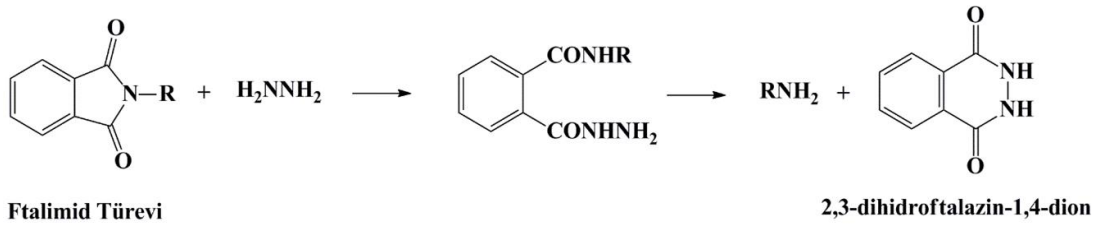
Ftalimid korumasının kaldırılmasının genel mekanizması Şekil 15'te gösterilmektedir. Burada sensör, elektron veren aromatik amino grubuna sahip floroforun ftalimid türevidir. Elektron eksikliği olan ftalimid korumalı sensör, PET işlemi nedeniyle genellikle daha az emisyonla sahiptir. Hidrazinin ftalimid parçasının karbonil grubuna nükleofilik eklenme-eliminasyonunun, ftalhidrazidi oluşturmak için müteakip bir intramoleküler nükleofilik eklenme-eliminasyon reaksiyonuna giren bir karbonilhidrazid ara ürünü yoluyla ilerler (Roy ve Bandyopadhyay, 2018). Şekil 1.14'te gösterildiği gibi sensör çözeltisine hidrazin ilave edilmesiyle ftalimid korumasının kaldırılmasının bir sonucu olarak, PET işlemi durdurulur ve floroforun floresans yoğunluğu artar (Wang ve diğerleri, 2016).



Şekil 1.14. Hidrazin tespiti için genel koruma kaldırma stratejisi.

1.4. Hidrazinoliz

Birincil aminler, ftalimid ile koruma yoluyla ve ardından hidrazinoliz yoluyla haloalkanlardan hazırlanabilir (Gao ve diğerleri, 2022). Adını Alman kimyager Siegmund Gabriel'den alan Gabriel sentezi, birincil aminlerin hazırlanması, özellikle alkil halojenürlerin birincil aminlere dönüştürülmesi için klasik bir yaklaşımdır. Geleneksel olarak bu reaksiyon, bir hedef birincil alkil halojenür tarafından ftalimidin N-alkilasyonunu ve ardından birincil aminleri serbest bırakmak için ftaloil grubunun hidrazin ile bölünmesini içerir (Nguyen ve diğerleri, 2018). Genel reaksiyon şeması, Şekil 1.15'te gösterilmiştir.



Şekil 1.15. Hidrazinoliz reaksiyonlarının genel mekanizması (Khan, 1995).

Gabriel amin sentezi işleminde, N-ikameli ftalimid asit veya baz ile hidroliz edilir ancak hidroliz adımının hız sınırlayıcı adım olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, bu hidroliz adımı, Ing-Manske prosedürü olarak bilinen hafif ve nötr koşullar altında ftalimidin ayrılması için hidrazin kullanılarak modifiye edilmiştir (Manna ve diğerleri, 2019). Gabriel sentezinde yer alan bu strateji, tipik olarak amin içeren floroforlara ftalimid dahil edilerek floresan hidrazin sensörlerinin geliştirilmesi için başarıyla uyarlanmıştır (Nguyen ve diğerleri, 2018). Sonuç olarak hidrazinoliz, reaksiyon aktivitesi nedeniyle daha iyi sonuçlar, daha kısa yanıt süreleri ve daha makul reaksiyon koşulları sağlar (Manna ve diğerleri, 2019).

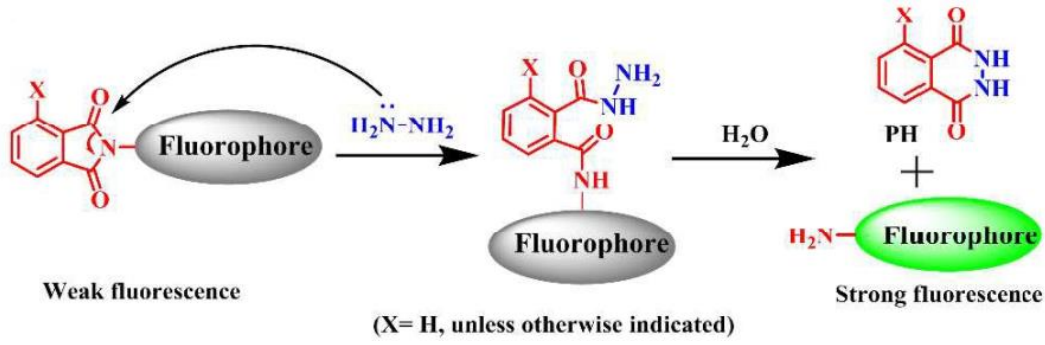
1.5. Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında, reaksiyon bazlı ve koruma kaldırma stratejisine dayanan BTF sensörü ile hidrazinin seçici tespiti gerçekleştirilecektir. 500 eşdeğer girişim yapması muhtemel türlerin varlığında sensörün hidrazine karşı seçici davranışı incelenecektir. Sensör, Gabriel Sentezi hidrazinoliz yöntemi ve PET mekanizmasına

dayanarak sentezlenip karakterize edilecektir. Elektron çekici ftalimid grubunu, benzotiyazol gibi geniş bir konjuge alana sahip organik florofor ile birleştirerek, absorpsiyon ve emisyon ölçümleri ile sensörün araştırma çalışması gerçekleştirilerek reaksiyon mekanizması belirlenecektir. Ayrıca, sensörün çözelti ve gaz fazındaki hidrazine karşı olan seçici davranışı görsel olarak tespit edilecektir.

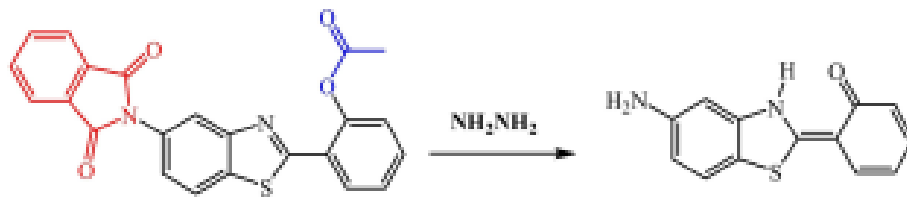
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Literatürde hidrazin tespiti için ftalimid koruma kaldırma stratejisine dayalı floresan sensörler önemli bir yere sahiptir. Hidrazin sensörlerinin algılama mekanizmalarının genel gösterimi Şekil 2.1’de sunulmuştur.



Şekil 2.1. Ftalimid korumasının kaldırılmasının genel mekanizması (Roy ve Bandyopadhyay, 2018).

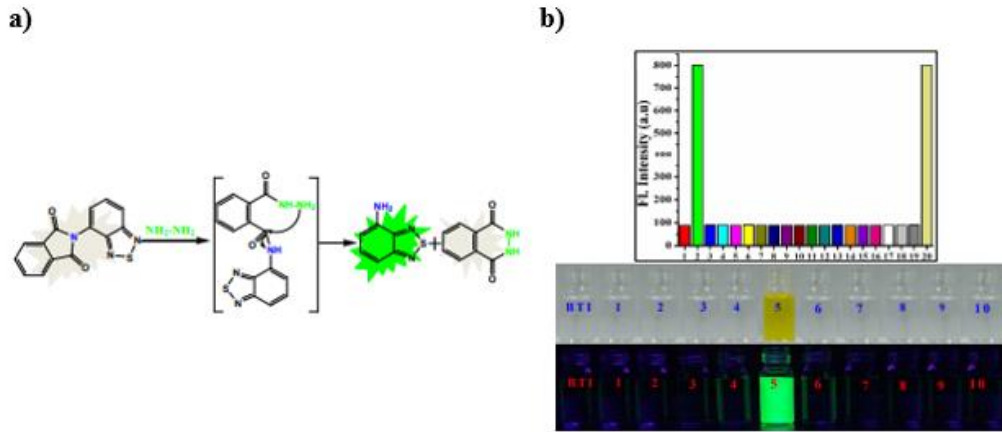
Li ve ark., N_2H_4 'ün tespiti için sinerjistik etkiye dayalı bir floresan sensör geliştirmişlerdir. Sensörün tasarım prensibi Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Sensörün floresansının ilk olarak, PET ve pasif durumdaki ESIPT ile iki kat engellenmiş olduğu çalışmada, hidrazin eklendikten sonra kesintiye uğrayan PET ve geri yüklenen ESIPT’in floresans güçlendirmeye yol açtığı görülmüştür. Hidrazin için iyi bir seçiciliğe sahip olduğu gösterilen sensörün 0,2-40,0 μM lineer aralıktaki LOD değeri 1,45 ppb olarak hesaplanmıştır (X. Li ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.2. 2019 yılında Li ve ark. tarafından geliştirilen sensörün tasarım prensibi.

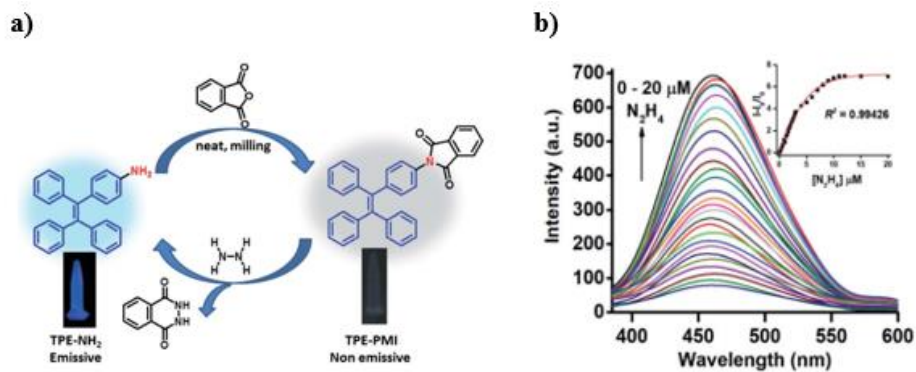
Mahapatra ve ark., çıplak gözle hidrazini seçici kolorimetrik ve florometrik olarak saptayan ve gabriel reaksiyon mekanizmasına dayanan 2-benzo [1,2,5] tiadiazol-4-il-izindol-1,3-dion sensörünü sentezlemişlerdir. Sensör hem gaz fazında hem de sulu çözeltide hidrazinin seçici tespiti için başarıyla uygulanmıştır. Çalışmadaki sensör, diğer

aminlerin varlığında hidrazine karşı yüksek seçiciliğe sahip olup hidrazinin spesifik tespiti için karakterize edilmiştir ve sensörün tespit limiti 2,9 ppb olarak bulunmuştur. Şekil 2.3a, çalışmadaki sensörün algılama mekanizmasını, şekil 2.3b ise çalışmadaki deneysel verilerden elde edilen sonuçları göstermektedir (Maji ve diğerleri, 2016).



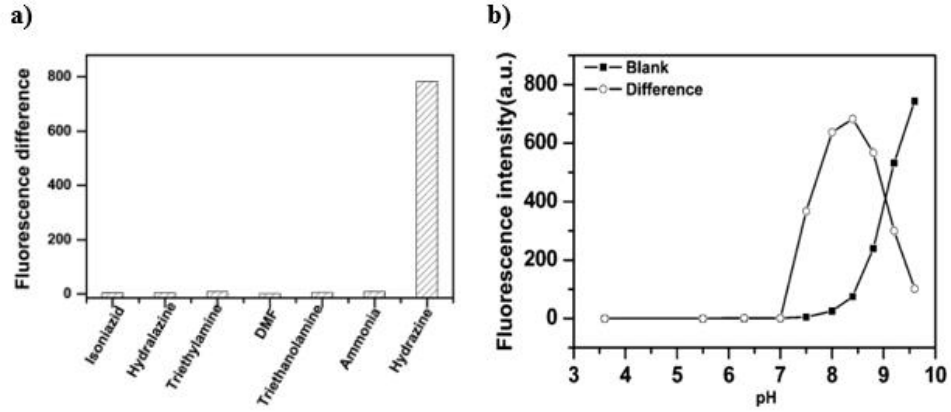
Şekil 2.3. (a) Sensörün hidrazini algılama mekanizması, (b) H₂O-DMSO (4:6, v/v, 10 mM HEPES, pH 7.4) çözeltisindeki 1 μ M sensörün hidrazin (1,5 eşdeğer) ve çeşitli analitlerin (50 eşdeğer) varlığında bağlı floresans yanıtları (üstte), aynı şartlarda çeşitli analitlerin varlığında ortam ışığında ve 365 nm UV lambası altında sensörün floresans renk değişiklikleri.

Banerjee ve ark. tarafından yapılan çalışmada, katı, sıvı ve buhar fazlarındaki hidrazinin tespiti için yeni bir AIE tabanlı florometrik sensör tasarlanmıştır. Sensörün tespit sınırı 6,4 ppb olarak bulunmuştur. Çalışmada sensörün aminler, amino asitler, metal anyonlar, anyonlar, yaygın oksidanlar ve indirgeyicilerin varlığında sadece hidrazine karşı seçici olduğunu belirlenmiştir. Ayrıca, TLC plakaları ve kâğıt şeritler gibi katı platformlarda hidrazin buharının nicel tespiti başarıyla uygulanmıştır. Şekil 2.4a, çalışmadaki sensörün hidrazini algılama mekanizmasını, Şekil 2.4b ise hidrazin eklendikten sonra sensörün floresans spektrumları gösterilmektedir (Hiremath ve diğerleri, 2021).

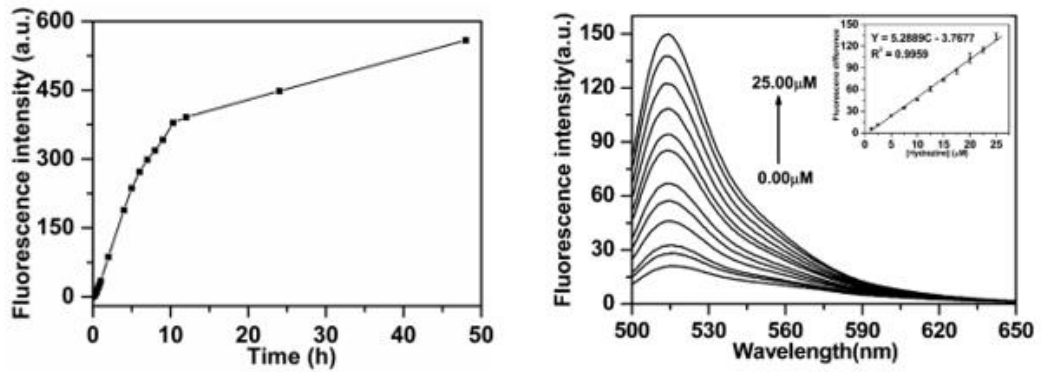


Şekil 2.4 (a) 2021 yılında Chatterjee ve ark. tarafından geliştirilen sensör TPE-PMI'nin hidrazini algılama mekanizması. (b) Hidrazin eklendikten sonraki floresans spektrumları. **Ek:** Hidrazin konsantrasyonlarına karşı floresans yoğunluklarının ilişkisini gösteren grafik.

Chen ve ark. gerçekleştirdiği çalışmada, 3,6-diasetoksifloran (FDA) sensörünün zamana bağlı floresan davranışını 50 saat boyunca incelenmişlerdir. Molekülün yüksek seçiciliğe sahip olduğunu ve algılama sınırının 31 nM olduğunu söylemişlerdir. Şekil 2.5 ve Şekil 2.6,'da çeşitli veriler gösterilmektedir (Qu, Chen ve Di, 2014).

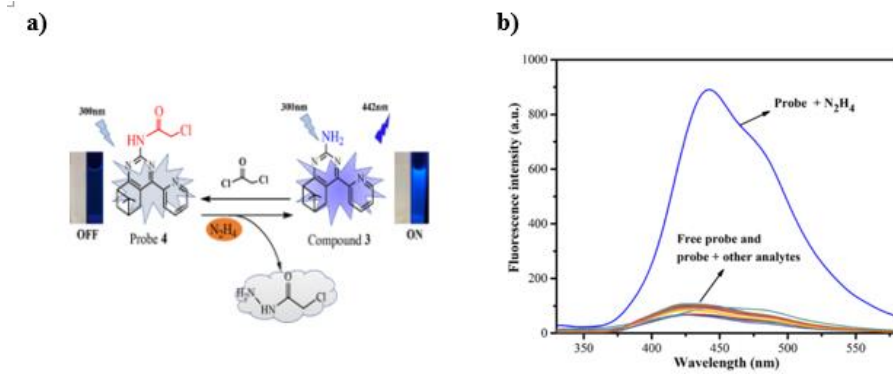


Şekil 2.5. (a) Sensörün hidrazine ve çeşitli analitlere karşı floresans yanıtları. (b) Sensörün hidrazin varlığında ve yokluğunda pH'a bağlı floresans yoğunlukları.

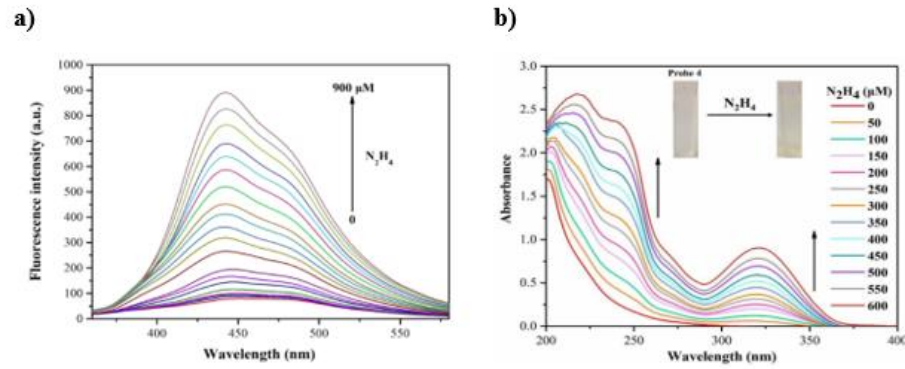


Şekil 2.6. (a) Hidrazin eklendikten sonra floresans yoğunluklarının zamana bağlı değişimi. (b) Farklı hidrazin konsantrasyonlarında 5 µM sensör FDA'nın floresans spektrumları. Ek: Doğrusal konsantrasyon aralığı

2019 yılında Wang ve ark. tarafından hidrazini saptamak için bir floresan sensör geliştirilmiştir. Geliştirilen sensörün, çeşitli metal iyonları, anyonlar, amino asitler ve diğer aminler varlığında hidrazine karşı yüksek seçiciliğe ve 1,03 µM'lik bir saptama limiti değerine sahip olduğu belirtilmiştir. Floresans yoğunluğunun, 0 ila 900 µM arasındaki N_2H_4 konsantrasyonu ile pozitif bir korelasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Şekil 2.7a çalışmadaki sensörün algılama mekanizmasını, şekil 2.7b seçiciliğini, Şekil 2.8 sensörün sırasıyla floresans ve absorpsiyon deneylerine ait verileri göstermektedir (M. Li ve diğerleri, 2019).

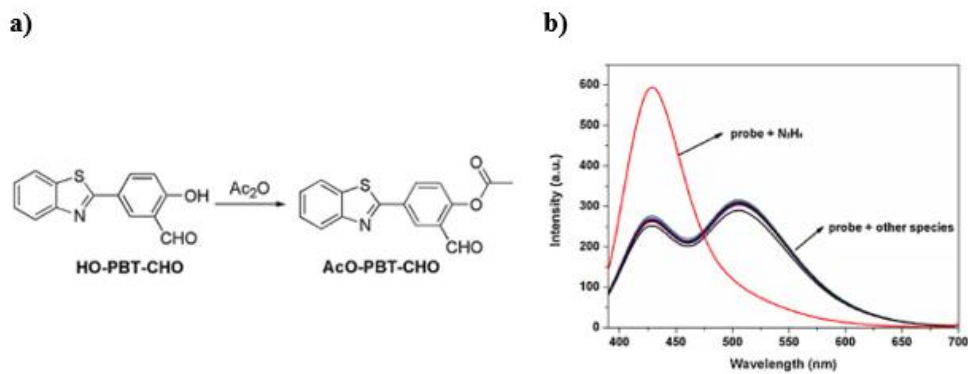


Şekil 2.7 (a) Sensörün (100 μM) hidrazini algılama mekanizmasının grafiksel olarak gösterimi, (b) sensörün diğer analitlerin (10 mM) varlığında hidrazine (900 μM) karşı gösterdiği belirgin seçicilik.

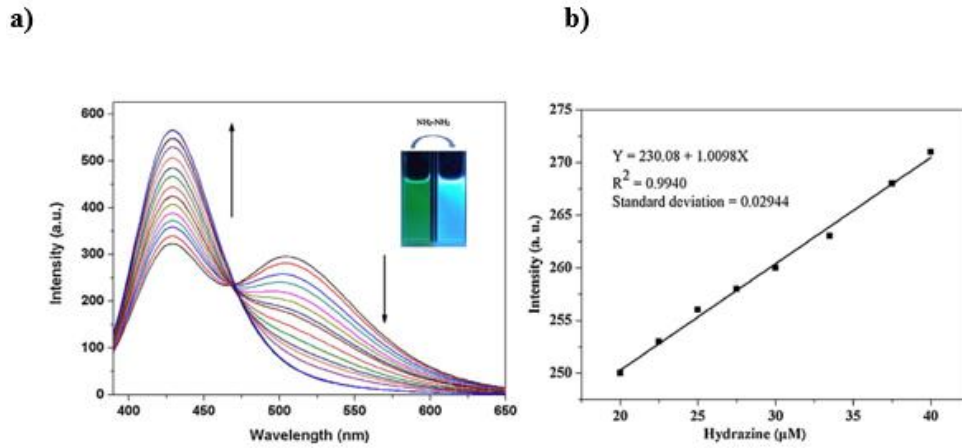


Şekil 2.8. Tasarlanan sensörün, (a) 0-900 μM aralığında hidrazin ilavesiyle birlikte floresans yoğunluğunda ve (b) 0-600 μM aralığında hidrazin ilavesiyle absorbansta meydana gelen değişiklikleri gösteren spektrumlar

Xu ve ark. tarafından hidrazin tespiti için iki farklı reaksiyon alanına sahip 2-fenil-benzotiyazol (PBT) bazlı floresan sensörü (AcO-PBT-CHO) tasarlanmıştır. Çalışmada, hidrazin ile etkileşim üzerine, sensörün 505 nm'deki emisyonunda azalma gözlenirken 430 nm'deki emisyonunda ise artış gözlenmiştir. Sensör, hidrazini diğer ilgili girişim yapan türlere karşı seçici olarak algılayabilmıştır. Şekil 2.9a çalışmadaki sensörün sentezini, Şekil 2.9b ve Şekil 2.10 ise çalışmaya ait deneysel verileri göstermektedir (Xu ve diğerleri, 2018).

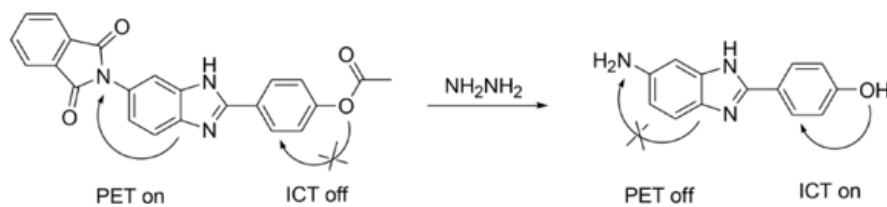


Şekil 2.9. (a) sensörün sentez mekanizması, (b) Sensörün farklı türlerin varlığında hidrazine karşı seçiciliği.

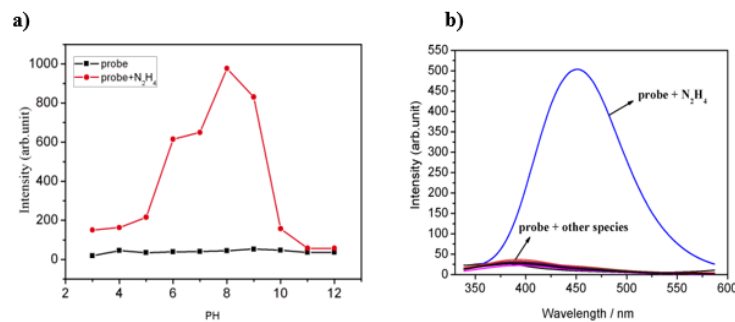


Şekil 2.10. (a) Sensörün üzerine hidrazin ilave edilmesiyle elde edilen floresans spektrumlarındaki değişiklikler ve floresansta meydana gelen renk değişikliği. (b) floresans yoğunlukları ve hidrazin konsantrasyonlarının ilişkisini gösteren doğrusal grafik.

2019 yılında Xu ve ark., 2-fenil-benzimidazol'a asetat ve ftalimid ekleyerek sinerjik etkiye dayalı bir hidrazin sensörü tasarlamışlardır. Teorik hesaplamalar ile PET sürecinin inhibe edildiğini ve ICT sürecinin geri kazanıldığını göstermişler ve bunun da floresans artışına yol açtığı söylemişlerdir. Sensörün diğer analitlerin varlığında, 0,2-200 μM konsantrasyon aralığında doğrusal bir yanıt ile yalnız hidrazine karşı duyarlı olduğu belirlemişlerdir. Şekil 2.11 çalışmaya ait algılama mekanizmasını, Şekil 2.12 ise sensörün elde edilen verilerin bir kısmını göstermektedir (Xu ve diğerleri, 2019).

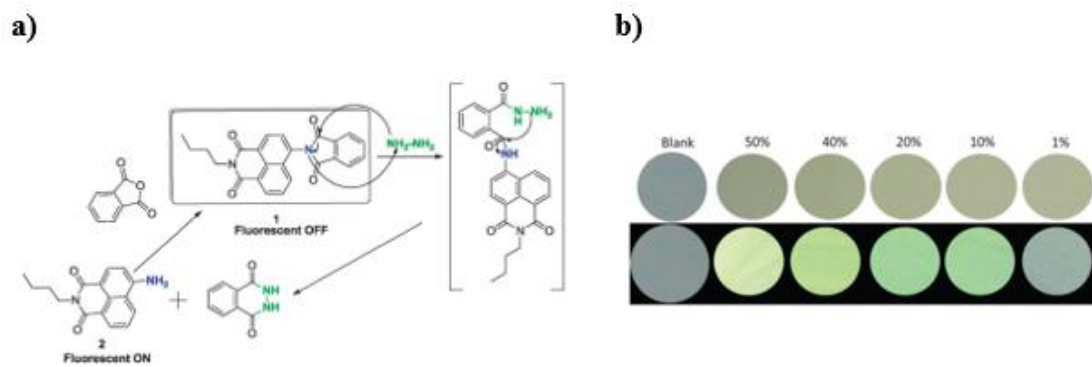


Şekil 2.11. 2019 yılında Xu ve ark. gerçekleştirdiği çalışmadaki sensörün algılama mekanizması.

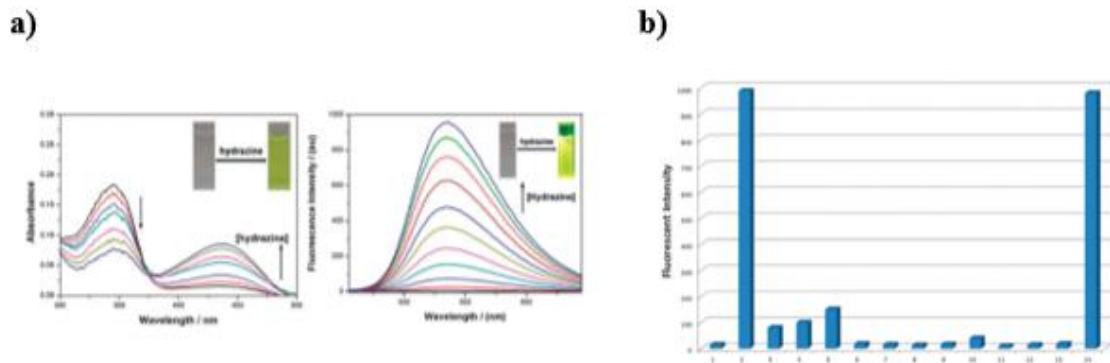


Şekil 2.12. (a) Sensörün hidrazin varlığında ve yokluğunda pH'a bağlı floresan değişimi (b) Farklı türlerin ve hidrazinin varlığında sensöre ait floresans spektrumları.

Cui ve ark. tarafından sulu çözeltideki diğer aminlere karşı yüksek seçicilikle hidrazin tespiti için Gabriel Sentezi'ne dayalı bir floresan sensör geliştirilmiştir. Sensör, hidrazin ile seçici olarak reaksiyona girerek 540 nm'de bir kapalı-açık floresans sinyal değişimi ve oda sıcaklığında 2 dakika içerisinde renksizden sarıya bir renk değişimi göstermiştir. Sensörün çözelti saptama limiti 0,3 ppb olarak bulunmuştur. Ayrıca sensör, farklı konsantrasyonlarda hidrazinin gaz fazı testi için kullanılmıştır. Çalışmadaki sensöre ait algılama mekanizması ve sensörün sentetik rotası şekil 2.13a da görülmektedir. Şekil 2.13b ise farklı konsantrasyonlardaki hidrazin sulu çözeltisine maruz bırakıldıktan sonra sensörün renk değişimlerini göstermektedir. Çalışmaya ait diğer deneysel veriler ise şekil 2.14'te görülmektedir (Cui, Peng, ve diğerleri, 2014).



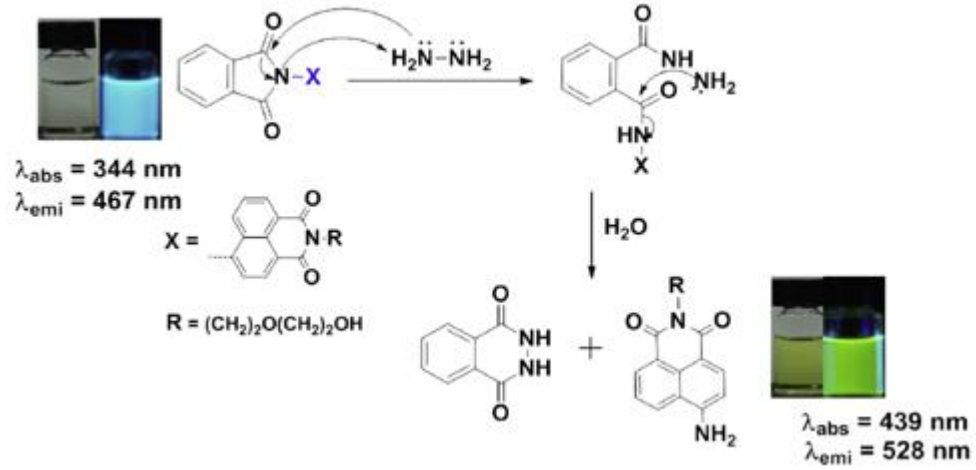
Şekil 2.13. (a) Sensörün sentez şeması ve önerilen hidrazinoliz mekanizması (b) TLC plakalarındaki sensörün farklı konsantrasyondaki hidrazin varlığında floresans renk değişiklikleri.



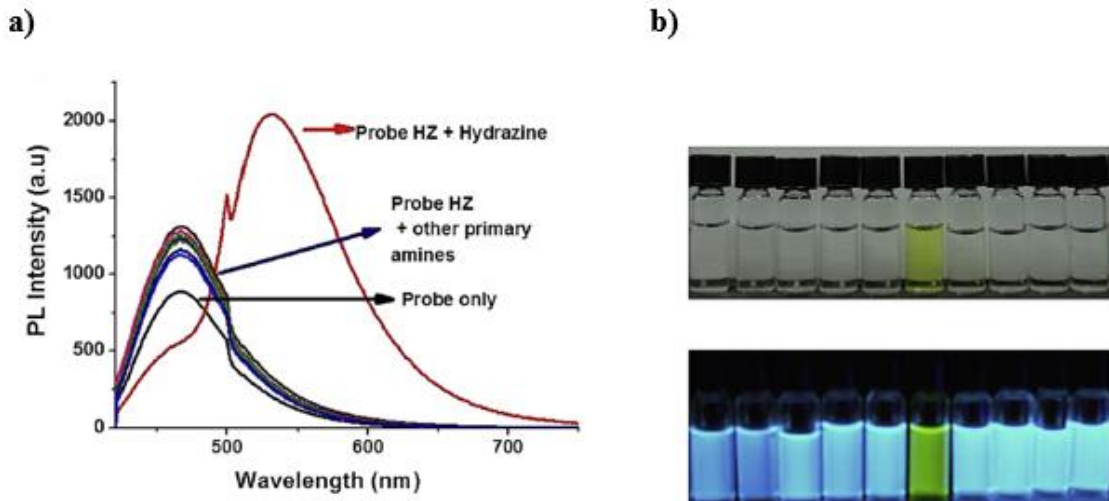
Şekil 2.14. (a) Sensörün DMSO-H₂O (4:6, v/v) ortamında UV ve floresans spektrumları (b) hidrazin ve çeşitli türler varlığında, sensörün floresan davranışı.

Lin ve ark. tarafından yapılan çalışmada, hidrazinoliz yöntemiyle hidrazin tespiti için ftalimid korumalı 4-aminonaftalimid sensörü geliştirilmiştir. Sensör, 4.2 nM'lık bir tespit limiti ile tampon çözelti ortamında hidrazine karşı seçici özellik göstermiştir. Çalışmada, hidrazinin bir ftalhidrazit ara ürünü ile ftalimid grubunun korumasını tamamen kaldırdığı hidrazinoliz yöntemiyle sensörün algılama mekanizmasını ortaya konulmuştur. Çalışmadaki sensöre ait algılama mekanizması Şekil 2.15'te ve çalışmaya

ait deneysel veriler Şekil 2.16’da gösterilmiştir (Ramakrishnam Raju, Chandra Prakash, Chang ve Lin, 2014).



Şekil 2.15. Tampon çözelti içerisinde sensörün hidrazin seçici ftalimid korumasının hidrazinoliz yoluyla kaldırılmasının mekanizması



Şekil 2.16. (a) PBS-EtOH (1:9, v/v, 10 mM, pH 7.2) şartlarında hidrazin (25 μM) ve diğer birincil aminlerin (25 μM) varlığında sensörün (5 μM) floresans spektrumları (b) Çeşitli aminler (25 μM) ile sensörün (5 μM) 365 nm UV lambası altında (altta) ve çıplak gözle (üstte) görülen floresans renk değişimleri.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller ve Ekipmanlar

Çözeltilerin pH değerleri Mettler Toledo InLab422 model mikro cam elektrot içeren dijital pH metre ile ölçüldü. ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları, standart TMS ile CDCl₃ içerisinde Bruker ASCEND 400 MHz NMR spektrometresi kullanılarak karakterize edildi. Bileşiğin kızılötesi spektrumları oda sıcaklığında 532 nm lazerli Thermo Scientific/Nicolet IS20 spektrometresi kullanılarak elde edildi. Absorbans ve floresans spektrumları, Shimadzu UV-3600 Plus spektrometresi ve Agilent Cary Eclips spektrometresi ile kaydedildi. HPLC ölçümleri Shimadzu-LC-20AT Prominence cihazında %65 MeCN - %35 su olacak şekilde kolon sistemi ile gerçekleştirildi. Kullanılan cihazların isimleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan cihazlar

Kullanılan Cihazlar	Tanımlayıcı Bilgi
Manyetik karıştırıcı	Clifton Cerastir
Vakumlu etüv	Wisd
Mikropipet	Brand
pH metre	Mettler Toledo
¹ H NMR ve ¹³ C NMR	Bruker
FT-IR	Thermo Scientific / Nicolet IS20
UV-Vis spektrofotometre	Shimadzu UV-3600 Plus
Florimetre	Agilent Cary Eclips spektrometresi
HPLC	Shimadzu-LC-20AT
Saf su cihazı	Millipore

3.2. Stok Çözeltilerin Hazırlanması ve Optik Ölçümler

Sensör ve hidrazinin stok çözeltileri DMSO içerisinde 0,01 M ve 0,50 M olarak hazırlandı. Seçicilik çalışmalarında kullanılan tetrabutilamonyum tuzları, nitrat tuzları, aminler ve biyolojik moleküllerin stok çözeltileri distile suda 1,0 M olarak hazırlandı. UV-Vis ve spektrofotometre ölçümlerinde kullanılan stok sensör, stok hidrazin ve stok analit çözeltilerinin hesaplanan miktarları, DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) içerisinde çözelti hacminin 3 mL’ye tamamlanmasıyla hazırlandı. PBS tampon çözeltisi,

2 g PBS'in (1 tablet) distile suda 200 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlandı. Stok çözelti hazırlarken kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2'de verilmiştir.

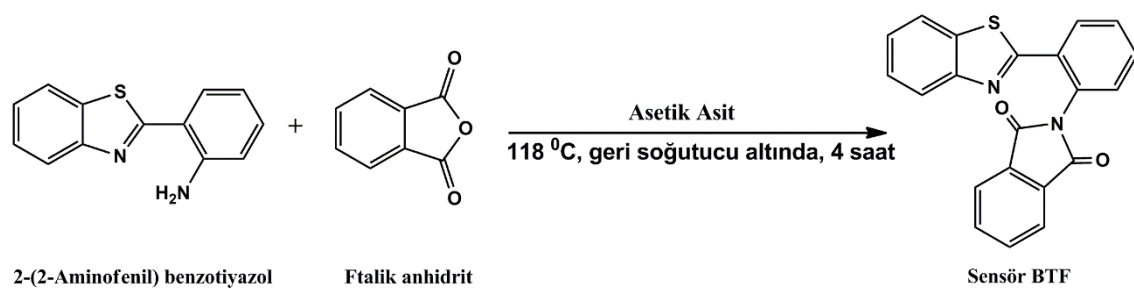
Absorpsiyon ve floresans ölçümleri oda sıcaklığında DMSO-PBS (1:1, v/v, 10 mM, pH=7,4) çözücü sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Absorpsiyon spektrumları, 1.2 cm standart kuvars hücreli UV-vis spektrofotometrede kaydedildi. Floresans spektrumları λ_{ex} : 370 nm; yarı genişliği (uyarma: 2,5 nm / emisyon: 2,5 nm); PMT voltajı: 650 V olan şartlarda gerçekleştirildi.

Çizelge 3.2. Stok çözelti hazırlamada kullanılan kimyasal malzemeler

Kullanılan Kimyasal	Adı	Markası
Tetrabutylamonyum tuzları	ClO_4^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , AcO^- , Br^- , SO_4^{2-} , I^-	Sigma Aldrich
Nitrat Tuzları	Cu^{2+} , Na^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+}	Sigma Aldrich
Aminler	Amonyak, Trietilamin, Dietilamin, Hekzametildiamin, 1-Naftilmetilamin, 3-Metoksipropilamin	Sigma Aldrich
Biyolojik moleküller	Üre, L-Glutasyon, Pirolin	Sigma Aldrich
PBS	Phosphate buffered saline-tablet	Sigma Aldrich

3.3. Sensörün Sentezi ve Karakterizasyonu

2-(2-(benzo[d]tiazol-2-il) fenil) izoindolin-1,3-dion



Şekil 3.1. Sensöre ait sentez şeması.

Sensörün (2-(2-(benzo[d]tiazol-2-il) fenil) izoindolin-1,3-dion) sentezi literatürde belirtilen yöntemle benzer şekilde sentezlenmiştir (Nagarajan ve diğerleri, 2013). 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol (1,00 mmol, 226 mg) asetik asit (5 mL) içerisinde çözülerek üzerine ftalik anhidrit (1,00 mmol, 148 mg) eklendi. Karışım 118 °C'de 4 saat geri soğutucu altında TLC ile takip edildi. Sensör, kolon kromatografisi ile etil asetat/hekzan (1:5, v/v) çözücü sistemi kullanılarak sarı renkte ve katı olarak elde edildi. Bu reaksiyon

sonucunda 313 mg ürün elde edildi ve reaksiyon verimi % 84 olarak hesaplandı. Elde edilen ürün, NMR ve FT-IR spektrometre teknikleri ile karakterize edildi. Çalışmalarda kullanılan 2-(2-(benzo[d]tiazol-2-il) fenil) izoindolin-1,3-dion bileşiğinin sentez şeması Şekil 3.1'deki gibidir.

3.3. Hidrazin Algılama Uygulamaları

3 cm x 1 cm boyutlarında TLC şeritleri kesildi. Üzerine DMSO içerisinde hazırlanan 50 μ M sensör çözeltisinden 3'er damla damlatılarak oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra her bir test şeridi üzerine farklı derişimlerindeki DMSO-PBS (1:1, v/v, 10 mM, pH=7,4) içerisinde hazırlanan hidrazin çözeltilerinden 3'er damla damlatıldı. Şeritlerde meydana gelen floresans renk değışiklikleri UV ışığı (365 nm) kullanılarak incelendi.

Sensörün hidrazin buharına karşı algılama davranışını incelemek için TLC şeritleri 3 cm x 1 cm boyutlarında kesilerek DMSO içindeki 1 mM sensör çözeltisine bir kez daldırıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu. TLC şeritleri oda sıcaklığında, içerisinde farklı yüzdelerde sulu hidrazin çözeltileri bulunan şişelerin içerisinde kapak kısımlarından çözeltiyle temas etmeyecek şekilde kapatıldı. Tüm TLC şeritlerinin floresans değışiklikleri, UV ışığı (365 nm) altında bir akıllı telefon kamerası kullanılarak gözlemlendi.

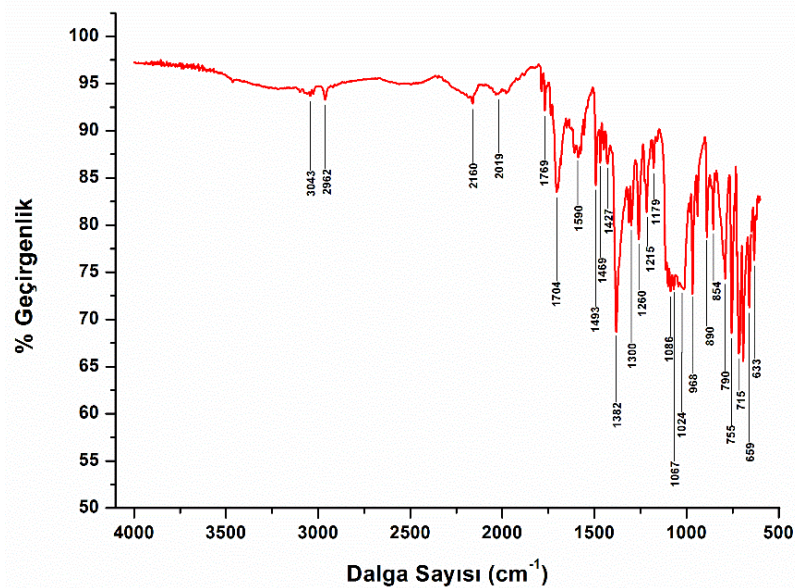
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Sensörün Karakterizasyonu

Sentezlenen molekülün yapısı ^1H NMR, ^{13}C NMR ve FT-IR ile karakterize edilmiştir. ^1H NMR spektrumuna göre moleküldeki toplam 12 protondan en aşağı alanda görülen 1,00 integrasyona sahip sinyal benzotiyazol kısmına bağlı benzen halkasına ait protona, 2,00 integrasyona sahip sinyal ise ftalimid kısmına bağlı benzen halkasına ait karşılıklı protonlara aittir. ^{13}C NMR spektrumuna göre, en aşağı alanda bulunan sinyaller molekülde bulunan heteroatomlara (imin ve amit) aittir. Bu sonuçlardan molekülün istenilen yapıda olduğu anlaşılmaktadır. Sensörün ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumlarına ait sonuçlar aşağıda verilmiştir.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.08 – 8.00 (m, 1H), 7.89 – 7.84 (m, 2H), 7.81 – 7.67 (m, 3H), 7.62 – 7.51 (m, 2H), 7.47 – 7.35 (m, 1H), 7.31 – 7.13 (m, 3H) ppm; ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 167.2, 163.0, 152.7, 133.8, 133.1, 131.6, 130.5, 130.3, 130.2, 130.00, 128.9, 128.7, 125.1, 124.4, 122.7, 122.2, 120.3 ppm.

Sentezlenen moleküle ait FT-IR spektrumu Şekil 4.1’de verilmiştir. Aromatik bileşiklerde C-H gerilme titreşimleri genellikle $3100\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ aralığında görülmektedir (Jag Mohan (Author), 2004). 3043 cm^{-1} dalga sayısındaki pik benzen halkasındaki $\text{Csp}^2\text{-H}$ gerilmelerine aittir. Benzen ve türevlerinin halka gerilme titreşimleri oldukça önemlidir ve $1625\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ aralığında pik verirler (Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David J. Kiemle, 2014)

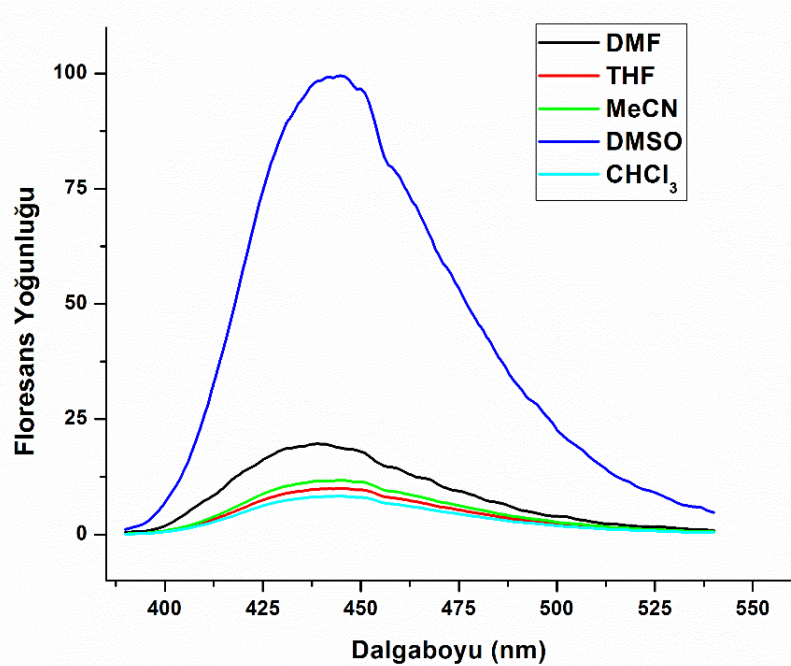


Şekil 4.1. Sensörün FT-IR spektrumu.

Spektrumda 1590 cm^{-1} ve 1469 cm^{-1} 'deki gerilme pikleri sırasıyla C=N ve C=C bağlarına aittir (Manoharan, Thekkeppat, Das ve Ghosh, 2020). $1350\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ aralığında meydana gelen titreşimler Benzotiyazoldeki C-N gerilme titreşimleridir. Bu bölgedeki pikler birkaç bandın karışımı şeklinde bulunabilir ve tanımlamak kolay değildir (Muthu, Maheswari ve Sundius, 2013). Bu nedenle spektrumda, 1215 cm^{-1} ve 1260 cm^{-1} 'de gözlemlenen bantların, C-N gerilme titreşimlerine ait olduğu düşünülmektedir. Molekülde bulunan Ftalimid grubundaki C=O (imid) bağlarının asimetrik ve simetrik gerilme titreşimleri ile aromatik C-H bağlarının titreşimleri sırasıyla 1769 , 1704 ve 715 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. Buda ftalimid grubunun varlığını ortaya koymaktadır (Ghiggi, Pollo, Cardozo ve Tessaro, 2017).

4.2. Çözücü Seçimi

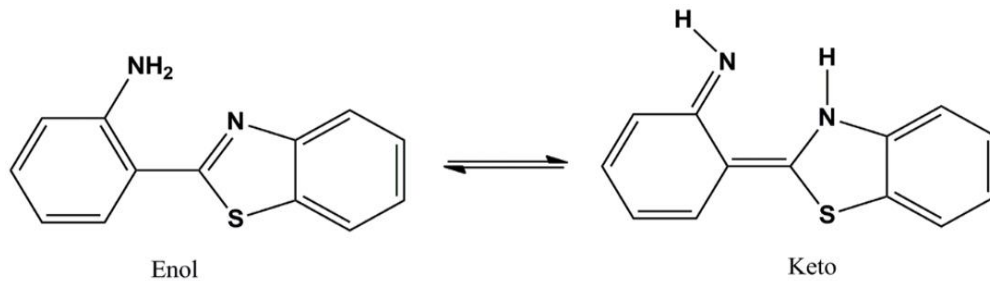
Sensöre, hidrazin ilave edildikten sonra floresans yoğunluğuna farklı çözücülerin (DMSO, DMF, THF, MeCN ve CHCl_3) etkisi araştırıldı. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi DMSO en yüksek floresans yoğunluğu göstermiştir. 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol'ün CHCl_3 gibi nispeten polar olmayan çözücüde çözünmesi sadece dielektrik etki ile olmaktadır ve amin ile çözücü arasında sadece van der Waals etkileşimleri vardır.



Şekil 4.2. Yaygın çözücülerde $50\text{ }\mu\text{M}$ sensör çözeltisine 200 eşdeğer hidrazin eklendikten 200 dakika sonra elde edilen floresans spektrumları.

2-(2-Aminofenil) benzotiyazol'ün DMSO'da çözünmesinde ise dielektrik etkiye ek olarak çözünen ve çözücü molekülleri arasında hidrojen bağı olmasından dolayı sensör floresans yoğunluğunun artmasına sebep olduğu ve dalga boyunun kırmızıya kaydığı tahmin edilmektedir.

Çözücü etkisi, polar çözücülerde molekül içi yük transferine bağlıdır (Binghe Wang (Editor), 2011). Proton transferi özelliğine sahip moleküller genellikle temel halde kararlı bir enol yapısında bulunurlar ve molekül içi hidrojen bağları içerirler. Hidrojen bağlarındaki protonlar uyarıldıklarında donörlerini terk ederler ve hidrojen bağı yönü boyunca proton alıcı gruba aktarılırlar. Sonuçta enolden ketoya yapısal bir geçiş yani uyarılmış durum intramoleküler proton transferi (ESIPT) meydana gelir (Şekil 4.3).



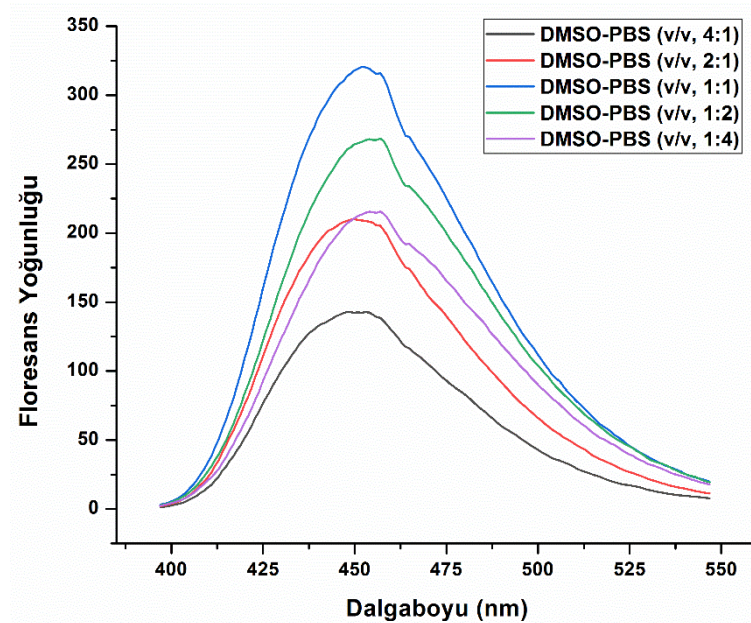
Şekil 4.3. 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol'ün enol ve keto formları

ESIPT, molekül içi veya moleküller arası hidrojen bağı yoluyla floresans değişimini kontrol eden, hidrojen bağında uyarılmış durum protonlarının donörden akseptöre transferini önleyen, floresansta ve emisyon dalga boyunda kolayca değişikliklere yol açabilen bir fotokimyasal floresans mekanizmasıdır (F. Zhang ve diğerleri, 2022). Uyarılmış haldeki keto formundaki enerjinin bir kısmı floresans emisyonu şeklinde salınır ve kararlı temel hal olan enol formuna geri döner. Metanol gibi protik polar çözücülerde, hidrojen bağı komplekslerin oluşumu, 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol molekülünde, özellikle enamin yapısında belirgin yapısal bozulmalara neden olur. Moleküldeki benzotiyazol düzlemi, enamin grubunu içeren benzen halkasının düzlemine neredeyse diktir ve bu bükülmüş yapının enerjisi önemli ölçüde azdır. Bu da uyarılmış durumda, enol formu enerjisinin keto formu enerjisinden büyük olmasına sebep olur ($E_{Enol^*} > E_{Keto^*}$). Keto formu olan enamin yapısı kararlı bir konfigürasyona dönüştürülür, ancak bunun da osilatör yoğunluğu $f_{Keto^*} \approx 0$ olacağından ve floresans da sadece amin yapısı tarafından üretildiğinden floresans yoğunluğu büyük ölçüde azalır.

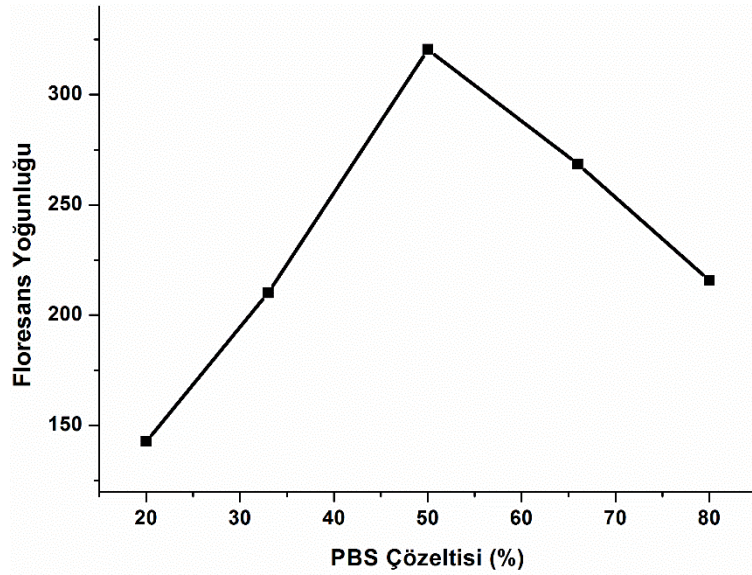
4.2.1. Çözücü Sisteminin Etkisi

Farklı çözücü sistemlerinin floresans yoğunluğu üzerine etkisi araştırılmıştır. Çözücü sistemi olarak DMSO ile PBS (10 mM, pH=7,4) karışımının farklı hacim oranları (DMSO:PBS; 4:1, 2:1; 1:1; 1:2; 1:4) kullanılmıştır.

Şekil 4.4'te farklı oranlardaki DMSO-PBS (10 mM, pH 7.4) karışımının bulunduğu ortamdaki sensör ile hidrazinin etkileşimi sonucundaki floresans yoğunlukları ölçülmüştür. Ayrıca yüzde PBS miktarı ile floresans yoğunluğu arasındaki ilişki Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Şekil 4.4 ve 4.5'ten çözücü sistemindeki PBS miktarının artışıyla floresans yoğunluğunda bir artış olduğu, DMSO-PBS oranının 1:1 olduğunda en yüksek floresans yoğunluğuna sahip olduğu görülmüştür. PBS miktarı %50'den fazla olduğunda floresans yoğunluğunda azalma gözlenmiştir. Bunun sebebi, ortamda yüksek oranda su bulunduğu hidrazinin su molekülleri tarafından çözülmesi ve hidrazinin reaktivitesinin azalmasıdır (Samanta ve diğerleri, 2020).



Şekil 4.4. DMSO-PBS çözücü sisteminin farklı oranlarında 50 µM sensöre 200 eşdeğer hidrazin eklenecek şekilde 200 dakika sonunda elde edilen floresans spektrumları.



Şekil 4.5. DMSO-PBS (10 mM, pH=7,4) içerisindeki sensörün farklı PBS oranlarında hidrazine karşı floresan davranışı.

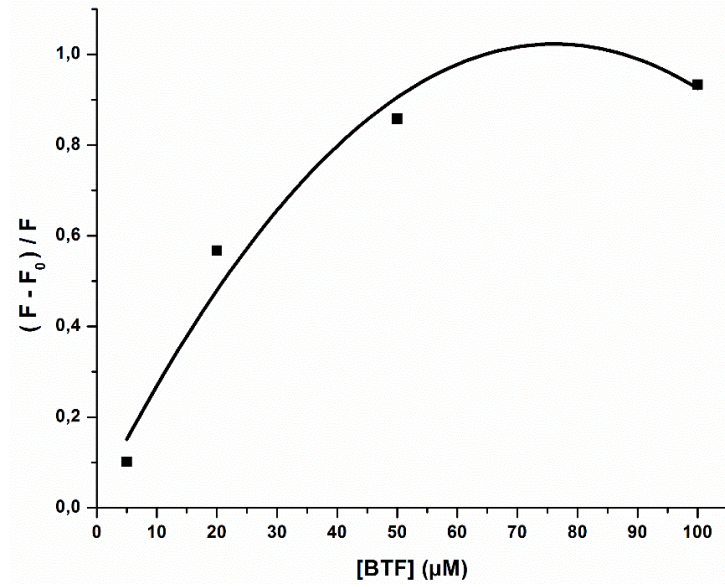
Yani, sulu çözeltilerde suyun ortamdaki hidrazin ile güçlü hidrojen bağı yapması ve bunun sonucu olarak da hidrazinin azalan nükleofilitesi olduğu düşünülmektedir (Ramakrishnam Raju ve diğerleri, 2014).

DMSO-PBS oranı 1:1 olduğu durumda en yüksek floresans yoğunluğu elde edildiğinden çalışmalar DMSO-PBS (1:1, v/v, 10 mM, pH=7,4) çözücü sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.3. Absorpsiyon ve Floresans Spektrumları

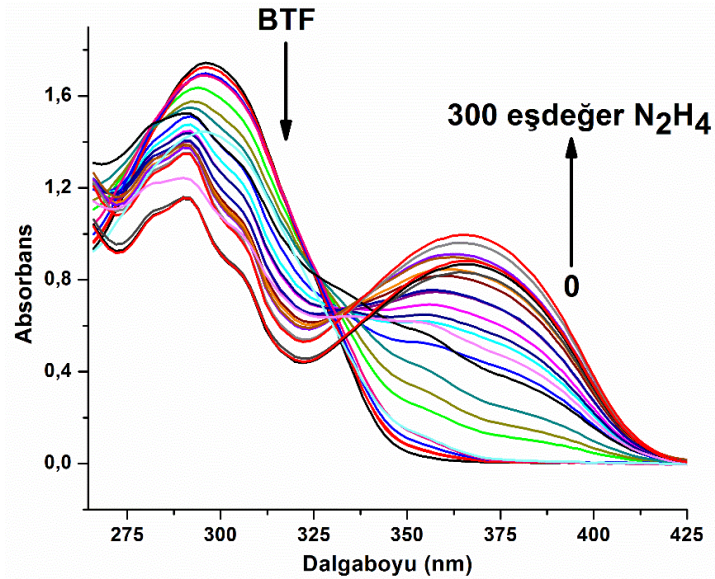
4.3.1. Hidrazin Derişimi

Sensör derişimi daha fazla hassasiyet elde etmek için optimize edilmesi gereken parametrelerden biridir (Tümay, Haddad Irani-nezhad ve Khataee, 2020). Şekil 4.6, DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4, λ_{ex} :370 ve λ_{em} :450 nm) koşullarında hidrazin varlığında 5-100 μ M arasında değişen sensör derişimlerine karşı floresans yoğunluklarını incelenmiştir. Her bir sensör derişimi için hidrazin derişimi 10 eşdeğer alınmıştır. Grafikten anlaşılacağı gibi sensör derişimi 50 μ M ve üzeri olduğunda floresans yoğunluğunun hemen hemen sabit kaldığı görülmektedir. Bundan dolayı sensörün tatmin edici bir floresans değerini ve uygun renk değişimini elde etmek için floresans ölçümlerinde sensör derişimi 50 μ M olarak alınmıştır.



Şekil 4.6. Hidrazin varlığında 5-100 µM arasında değişen sensör derişimlerine bağlı floresans yoğunlukları. Şartlar: DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4, λ_{ex} :370 ve λ_{em} :450 nm)

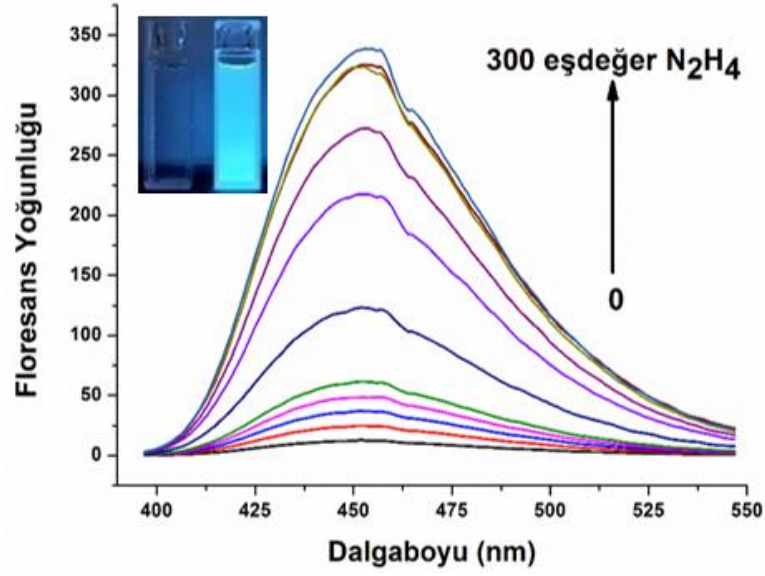
100 µM sensör çözeltisine 0-300 eşdeğer hidrazin eklenerek elde edilen UV-Vis spektrumları Şekil 4.7'de gösterilmektedir. Sensörün 296 nm'deki maksimum absorbanı, hidrazin ilavesiyle azalırken, 370 nm'de yeni bir tepe noktasının görünür hale geldiği gözlenmiştir.



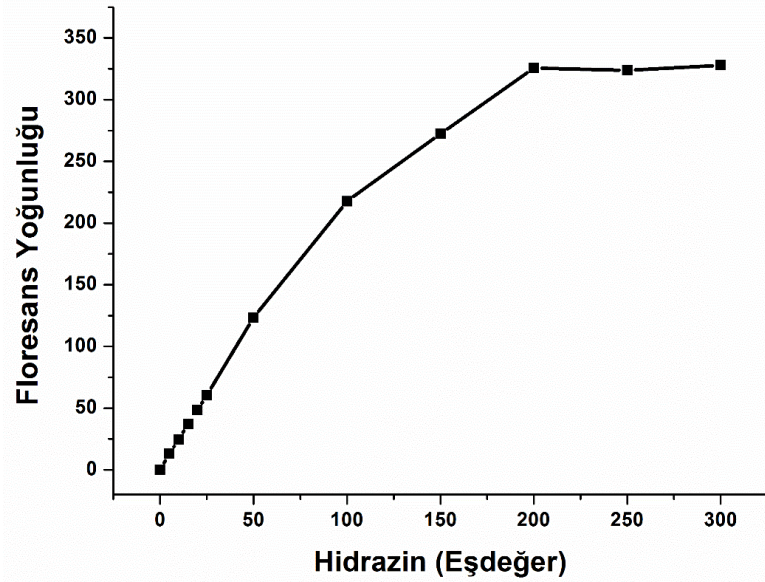
Şekil 4.7. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) içerisindeki 100 µM sensör çözeltisine 0-300 eşdeğer konsantrasyon aralığında hidrazin eklenmesi üzerine sensörün absorban spektrumundaki değişiklikler.

Sensörün floresans yoğunluğuna hidrazin derişiminin etkisi, 50 µM sensör çözeltisine 0, 5, 10 15, 20, 25, 50, 100, 150, 200, 250 ve 300 eşdeğer hidrazin eklenerek

araştırılmıştır. Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da, sensör çözeltisine hidrazin eklenmesiyle floresans yoğunluğunun arttığı ve 200 eşdeğerden sonra sabit kaldığı görülmektedir. Ayrıca sensör, 365 nm UV lambası altında renksizden maviye kayan bir şiddetli bir renk vermektedir.



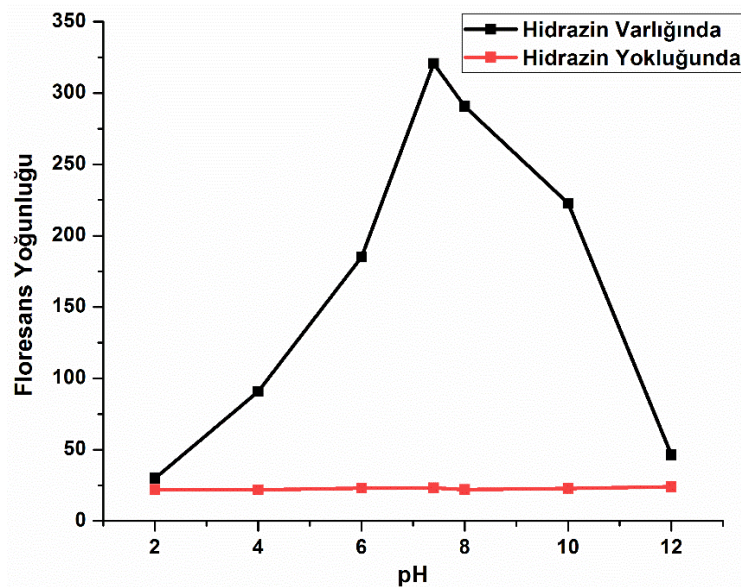
Şekil 4.8. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) içerisindeki 50 μ M sensör çözeltisine 0-300 eşdeğer konsantrasyon aralığında hidrazin eklenmesi üzerine sensörün floresans spektrumundaki değişiklikler. **Ek:** Hidrazin eklendikten sonra sensörün 365 nm UV ışık altında gösterdiği renk değişikliği.



Şekil 4.9. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) koşulları altında 0-300 eşdeğer aralığındaki hidrazin konsantrasyonlarına karşı sensörün floresans yoğunluklarının çizilmesiyle elde edilen konsantrasyon eğrisi.

4.3.2. pH Etkisi

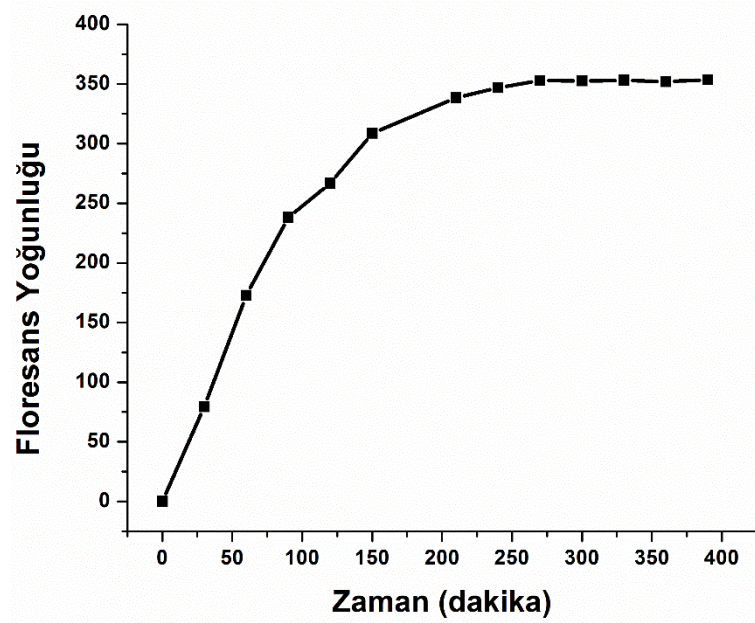
Sensör kararlılığı ve sensörün biyo-görüntülemelerdeki uyumluluğu için ideal bir pH belirlemek çok önemlidir (Shi, Yin, Zhang, Wen ve Huo, 2019). Şekil 4.10'dan görüleceği gibi, sensörün floresans yoğunluğu, pH 2-7.4 aralığında önemli ölçüde artarak pH 7.4'te maksimum değere ulaşmıştır. pH 7.4'ten sonra floresans şiddetinin azaldığı, asidik ortamdaki floresans yoğunluğunun bazik ortamdakine göre daha zayıf olduğu gözlenmiştir. Asidik bir ortamda, azotun benzotiyazol üzerindeki protonasyonu nedeniyle ICT etkisi artar, başlangıçta 435 nm'de bulunan floresans spektrumundaki maksimum emisyon dalgaboyu, nötr bir ortamda 450 nm'ye kadar kırmızıya kayar (Jiang ve diğerleri, 2017).



Şekil 4.10. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM) içerisinde 200 eşdeğer hidrazin varlığında (siyah) ve hidrazin olmadan (kırmızı) 50 μ M sensör çözeltisinin pH'ya bağlı floresans yoğunlukları.

4.3.3. Zaman Çalışması (Algılama Süresi)

Sensörün algılama süresi, DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) çözücü sisteminde, 50 μ M sensör çözeltisine 200 eşdeğer hidrazin eklenerek 420 dakika boyunca sensörün floresans yoğunluklarının zamana bağlı değişimleri araştırılmıştır. Sensörün 450 nm'deki floresans yoğunluğunun zamanla arttığı ve yaklaşık 200 dakika sonunda maksimum değerine ulaştıktan sonra sabit kalmıştır (Şekil 4.11)



Şekil 4.11. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) koşullarında, 50 μM sensör çözeltisine 200 eşdeğer hidrazin eklendikten sonraki 420 dakika boyunca sensörün floresans yoğunluğunun zamanla değişimi.

4.3.4. Tespit Sınırı (LOD)

Sensörün hidrazini tespit limitini (limit of detection, LOD) belirlemek için, sensörün 0-50 eşdeğer hidrazin konsantrasyonu aralığındaki emisyon spektrumları alınarak, hidrazin konsantrasyonuna karşı floresans yoğunluğundaki değişimini gösteren grafik Şekil 4.12’de verilmiştir. Hidrazinin tespit limitini hesaplamak için eşitlik (1)’de verilen denklem kullanılmıştır:

$$\text{LOD} = 2\sigma / S \quad (1)$$

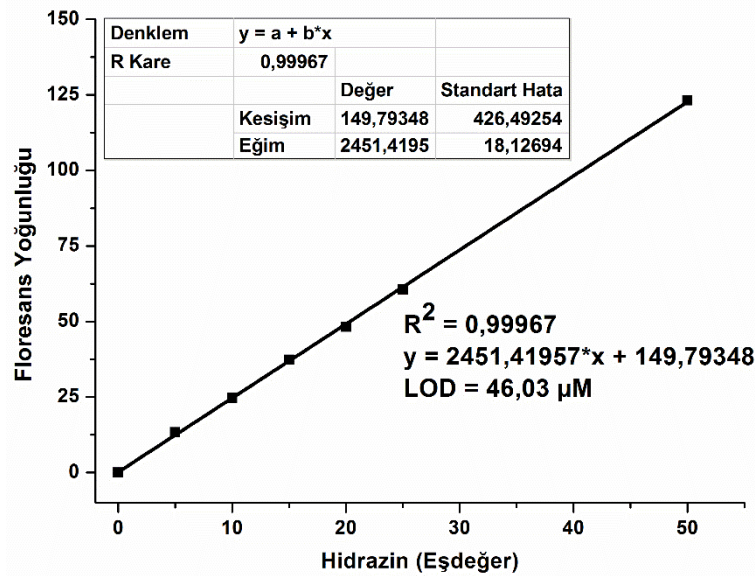
Burada;

LOD: Sensörün tespit limiti

σ : Boş ölçümün standart sapması

S: 50 μM sensör çözeltisine ait floresans yoğunlukları ile 0-50 eşdeğer aralığındaki hidrazin konsantrasyonları arasındaki eğim

Şekil 4.12’deki grafikten eğim, $S = 2451,42$ ve standart sapma $\sigma = 1128,39$ olarak elde hesaplanmıştır. Eşitlik (1) kullanılarak $\text{LOD} = 46,03 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.12. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) koşulları altında floresans yoğunlukları ile 0-50 eşdeğer aralığındaki hidrazin konsantrasyonları arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren kalibrasyon eğrisi.

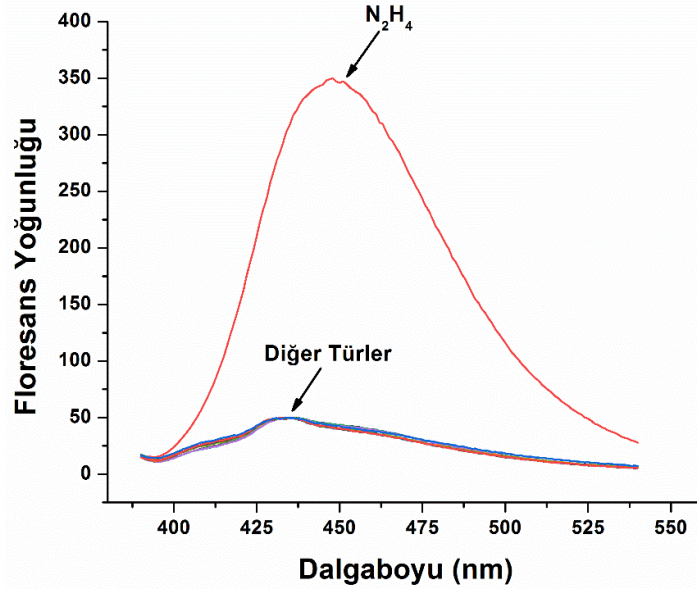
4.4. Seçicilik Çalışmaları

Biyolojik sistemlerde ve ortamlarda floresan sensörlerin uygulanması için seçicilik esastır (Yuan ve diğerleri, 2021). Sonuçların doğruluğunu belirleyen herhangi bir analitik yöntemin temel özelliği olan seçicilik, yöntemin yalnızca numunedeki analite bağlı sinyaller üretme yeteneği olarak tanımlanır. Çoğu durumda, en yüksek seçiciliği elde etme yeteneği, sensör uygulamaları için hayati önem taşır (Demchenko, 2015). Seçicilik, türün geometrisi, elektronik yapısı ve polaritesi dikkate alınarak tamamlayıcı moleküler veya iyonik özellikler aracılığıyla elde edilir (Galbraith, 2010).

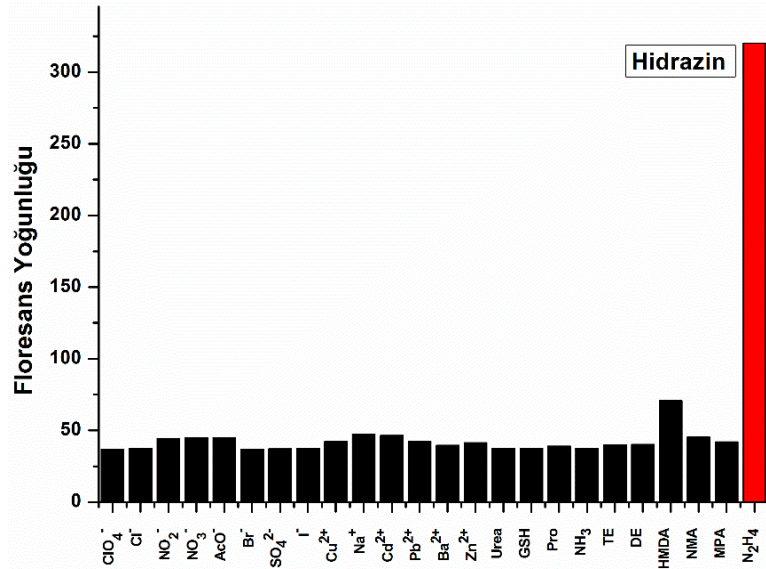
Sensörün seçicilik çalışmaları, yaygın anyonlar (ClO_4^- , Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , AcO^- , Br^- , SO_4^{2-} , I^-), yaygın katyonlar (Cu^{2+} , Na^+ , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+}), biyolojik moleküller (Üre, L-Glutatyon, Pirolin) ve aminler (Amonyak, Trietilamin, Dietilamin, Hekzametildiamin, 1-Naftilmetilamin, 3-Metoksipropilamin) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

50 μ M sensör çözeltisine hidrazin yokluğunda girişim yapması muhtemel türlerden 500 eşdeğer eklenirken, hidrazin konsantrasyonu 200 eşdeğerde sabit tutularak floresans emisyon değerleri ölçüldü. Türler, sensörün emisyon yoğunluğunda artışa neden olmazken, hidrazin önemli oranda artışa neden olmuştur. Bu da sensörün yalnızca hidrazin için seçici olduğunu göstermiştir (Şekil 4.13). Ayrıca, hidrazinin ve potansiyel

olarak girişim yapabilecek türlerin varlığında sensörün floresans yoğunluklarının bölmeler halinde gösterimi Şekil 4.14'te verilmiştir.

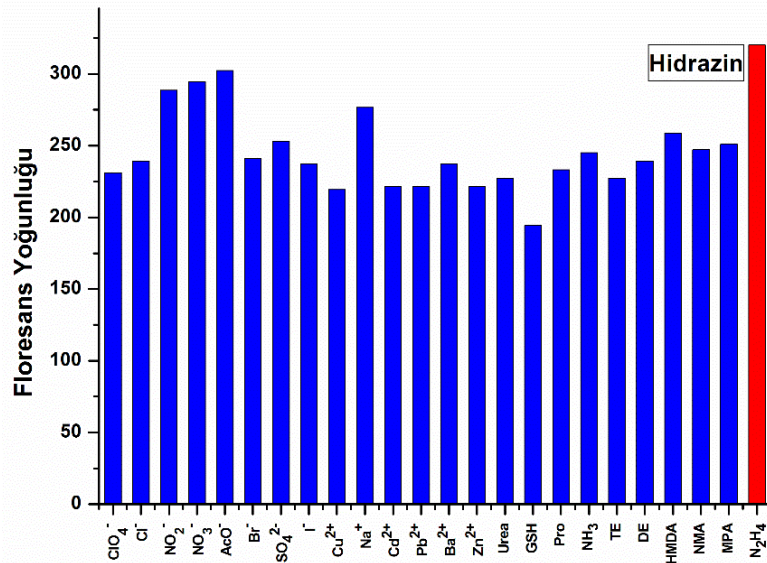


Şekil 4.13. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) içerisinde 50 μ M sensör çözeltisine 200 eşdeğer hidrazin ve 500 eşdeğer diğer türler eklenerek elde edilen floresans yoğunlukları.



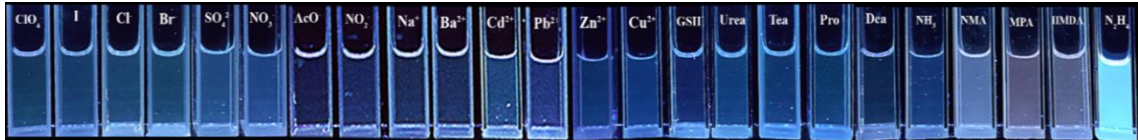
Şekil 4.14. DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) içerisinde 50 μ M sensör çözeltisine 200 eşdeğer hidrazin ve hidrazin yokluğunda 500 eşdeğer diğer türler eklenerek elde edilen floresans yoğunluklarının bölmeler halinde gösterimi.

50 μ M sensör çözeltisine 200 eşdeğer hidrazin varlığında, girişim yapması muhtemel türlerden 500 eşdeğer eklenerek sensörün floresans spektrumları elde edilmiştir. Türlerin varlığında sensörün emisyonunda artış gözlenmezken, her bir türün üzerine ayrı ayrı hidrazin ilavesi sonrası sensörün floresans yoğunluğunda önemli oranda artış gözlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. DMSO-PBS (1:1, v/v, 10 mM, pH=7,4) içerisinde 50 μ M sensör çözeltisine 200 eşdeğer hidrazin ve hidrazin varlığında 500 eşdeğer diğer türler eklenerek elde edilen floresans yoğunluklarının bölmeler halinde gösterimi.

Ek olarak anyonlar, katyonlar, biyolojik moleküller ve yaygın aminler için 365 nm UV lambası altında hidrazin yokluğunda kaydedilen renk değişimleri Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Burada da renk değişiminin sadece hidrazinde olduğu belirlenerek uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 4.16. UV ışık altında (365 nm) sensör çözeltilerinin farklı analitler ve hidrazin varlığında renk değişimleri.

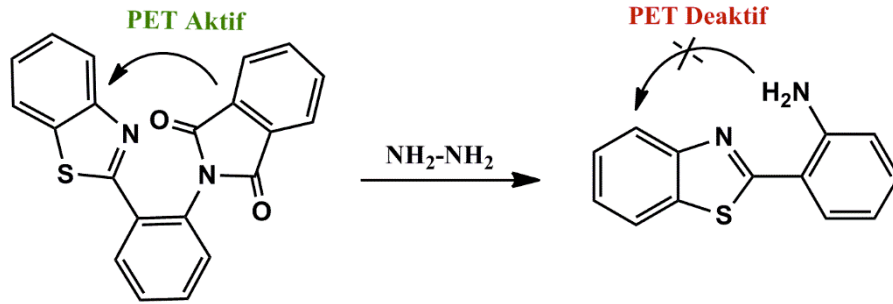
Tüm sonuçlar, sensörün kompleks numunelerde hidrazin için oldukça seçici olduğunu ve hidrazin tespiti için kullanılabilceğini göstermektedir.

4.5. Sensörün Hidrazini Algılama Mekanizması

Sensör tasarımında tanıma grubu olarak ftalimid grubunun seçilmesinin nedeni, bileşiğin korumasını kaldırmak için hidrazinin kullanılabilmesidir (Wang ve diğerleri, 2016). 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol ise PET oluşturma ve güçlü floresans emisyonu özelliği nedeniyle seçilmiştir (Roy ve Bandyopadhyay, 2018). Florofor 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol, ışık tarafından uyarıldığında, elektronları en yüksek dolu orbitalden (HOMO) en düşük boş orbitale (LUMO) geçiş yapar ve elektronlar radyasyonla

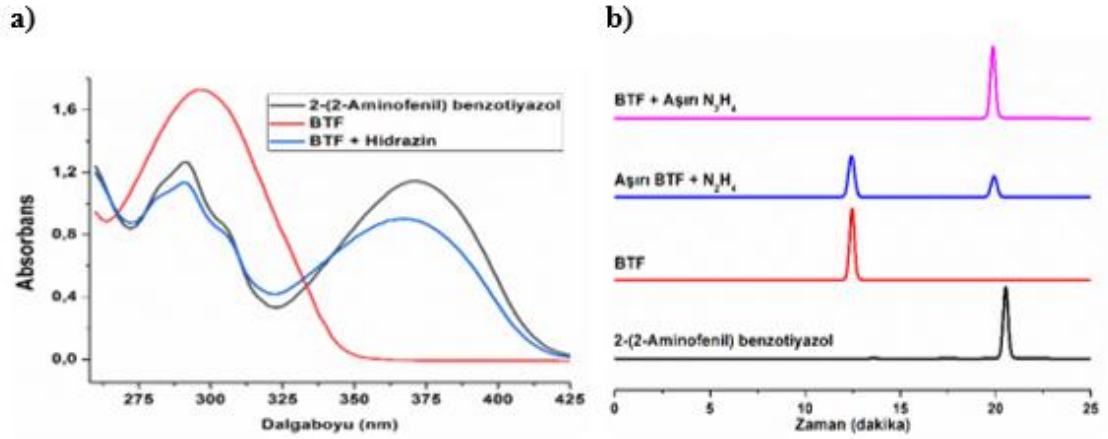
HOMO'ya geri döndüğünde floresans olayı meydana gelir. Ancak tanıma grubunun HOMO'su floroforun iki yörüngesi arasına yerleştirildiğinde, tanıma grubunda HOMO üzerindeki ortaklanmamış elektronlar yakındaki floroforun HOMO'sunu işgal ederek florofora ait LUMO orbital elektronlarının HOMO orbitallerine geçiş yapmasına engel olmaktadır. Böylece, florofora ait HOMO orbitallerinde radyasyon geçişinin oluşması engellenir, PET oluşur ve floresans söndürülür (So, Zaleski, Murlick ve Ellaboudy, 1996). Şekil 4.17'de sensöre ait PET mekanizması gösterilmiştir.

Ftalimid korumalı sensör neredeyse hiç floresans emisyonu vermemiştir. Hidrazin ilavesiyle ftalimid kısmı yapıdan ayrılarak 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol oluşmasıyla birlikte sensörün floresans yoğunluğunda kayda değer artış gözlenmiştir. Deneylerden elde edilen bulgular, sensörün algılama mekanizmasının Şekil 4.17'deki gibi hidrazinoliz olabileceğini göstermiştir.



Şekil 4.17. Sensöre hidrazin ilavesiyle PET sürecinin sonlanması ve 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol ile floresansın geri kazanımı.

Sensörün algılama mekanizması UV-Vis spektroskopisi ve (J. Zhang ve diğerleri, 2015) ve HPLC analizleri ile ortaya konulmuştur (T. Tang ve diğerleri, 2016). Şekil 4.18a'da görüldüğü gibi 2-(2-Aminofenil)-benzotiyazol bileşiği 370 nm dalgaboyunda, 2-(2-(benzo[d]tiazol-2-il) fenil) izoindolin-1,3-dion (BTF) sensörü ise 296 nm'de absorpsiyon piki vermektedir. Sensörün üzerine N₂H₄ ekleyip belirli bir süre beklendikten sonra sensöre ait olan 296 nm'deki pikin şiddetinin azaldığı ve 370 nm'de 2-(2-Aminofenil)-benzotiyazol bileşiğine ait olan absorpsiyon pikinin oluştuğu görülmektedir. Buda N₂H₄ ile sensörün etkileşime girdiğini ve oluşan türün 2-(2-Aminofenil)-benzotiyazol olduğunu ortaya koymaktadır.



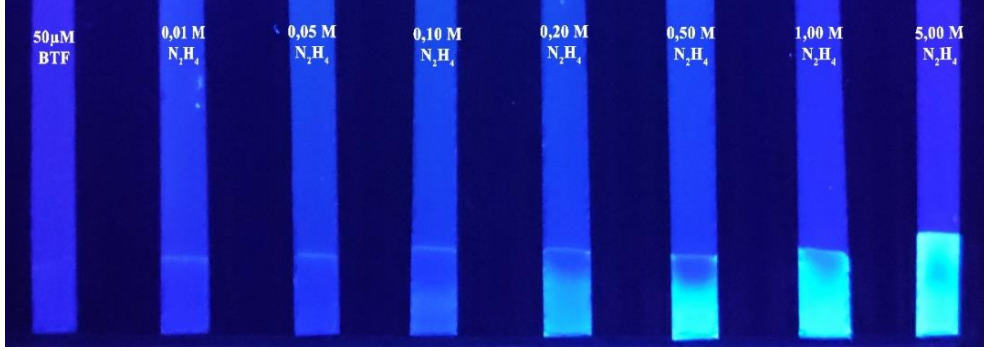
Şekil 4.18. Algılama mekanizmasının doğrulanmasına ait (a) UV-Vis spektrumları, (b) 330 nm'deki HPLC kromatogramları.

Önerilen bu mekanizmanın doğru olup olmadığını araştırmak için, reaksiyon gerçek zamanlı olarak HPLC ile izlendi. Şekil 4.18b'de gösterilen sonuçlar, BTF çözeltisine hidrazin (aşırı) ve hidrazin çözeltisine BTF (aşırı) ayrı ayrı eklendikten sonra, BTF konsantrasyonunun kademeli olarak azaldığını, 2-(2-Aminofenil)-benzotiyazol konsantrasyonunun kademeli olarak arttığını göstermektedir.

4.6. Sensör Uygulamaları

4.6.1. Test Şeritleri

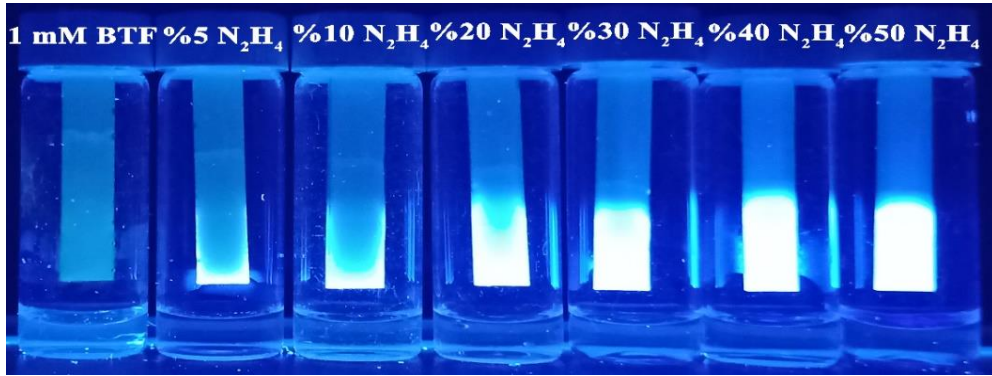
Test şeritleri, sensörlerin pratik uygulamaları için basit ve kullanışlı bir yöntemdir (Qiu, Chen, Jiang, Guo ve Yang, 2018). Hidrazini pratik olarak tespit etmek için TLC şeritleri kullanıldı. Her bir test şeridi üzerine ayrı ayrı, 0,01 M, 0,05 M, 0,10 M, 0,20 M, 0,50 M, 1,00 M ve 5,00 M derişimlerdeki DMSO-PBS (1:1, v/v, 10 mM, pH = 7,4) içerisindeki hidrazin çözeltilerinden 3'er damla damlatıldı. 60 dakika sonra, şeritlerin rengi 365 nm UV ışığı altında renksizden maviye değişim gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.19). Bu uygulama, hidrazini pratik olarak tespit etmek için sensörün kullanılabilceğini göstermiştir.



Şekil 4.19. BTf (50 μ M) kaplı test şeritlerine farklı konsantrasyonlarda hidrazin çözeltisi damlatıldıktan 60 dakika sonra sensörün bir UV lambası (365 nm) altında gösterdiği renk değişiklikleri.

4.6.2. Gaz Fazı Testi

TLC şeritleri oda sıcaklığında 15 dakika boyunca, içerisinde %0, %5, %10, %20, %30, %40 ve %50 derişimlerinde sulu hidrazin çözeltileri bulunan şişelerin içerisine kapak kısımlarından çözeltiliyle temas etmeyecek şekilde kapatılarak sensörün hidrazin buharına karşı algılama davranışı incelendi. TLC şeritlerin 365 nm UV ışığı altındaki renk değişimleri izlendi (Şekil 4.20). Buradan sensörün gaz fazındaki hidrazine karşı da duyarlı olduğu ve gaz fazı uygulamalarda kullanılabileceği sonucuna varıldı.



Şekil 4.20. Bir UV lambası (365 nm) altında farklı hidrazin buharı konsantrasyonlarına maruz bırakıldıktan 15 dakika sonra sensör (1 mM) kaplı TLC şeritlerinin renk değişiklikleri.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmasında hidrazin tespiti için reaktif bazlı floresan sensör olarak 2-(2-(benzo[d]tiazol-2-il) fenil) izoindolin-1,3-dion tasarlanarak sentezlenmiştir. Gabriel sentezine dayanan ve florofor grup olarak 2-(2-Aminofenil) benzotiyazol, ayrılan grup olarak ftalimid içeren floresan sensör, tek aşamalı bir reaksiyonla %84 verimle elde edilmiştir. Molekülün yapısal karakterizasyonları ¹H-NMR, ¹²C-NMR ve FT-IR ile gerçekleştirilmiştir.

Sensörün, farklı çözücü ortamlarında hidrazin ile tepkimesi sonucu en yüksek floresans şiddeti DMSO'da gözlenmiştir. Ayrıca PBS'in farklı oranlarının kullanılması ile oluşturulan çözücü sistemlerinden, DMSO-PBS oranının 1:1 olduğu çözücü sisteminde en yüksek floresans yoğunluğu elde edilmiştir. Sensörün hidrazin tespitinde kullanılabilceği derişim 50 µM olduğunda sensörün floresans yoğunluğu, hidrazin içeriğinin kademeli olarak artırılmasıyla artarak 200 eşdeğerde sabit kalmıştır. Sensörün 200 eşdeğer hidrazin varlığında 200 dakika sonunda maksimum değere ulaşarak sabit kaldığı gözlenmiştir.

Sensörün minimum tespit limiti LOD, 46,03 µM olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, sensörün farklı pH'lardaki performansı incelenerek floresans yoğunluğunun pH 7.4'te maksimum olduğu görülmüştür.

Sensör ile ilgili seçicilik çalışmaları, 50 µM derişimindeki sensör ve 200 eşdeğer hidrazin üzerine 500 eşdeğer anyonların (ClO₄⁻, Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, AcO⁻, Br⁻, SO₄²⁻, I⁻), kationların (Cu²⁺, Na⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ba²⁺, Zn²⁺), biyolojik moleküllerin (Üre, L-Glutatyon, Pirolin) ve aminlerin (Amonyak, Trietilamin, Dietilamin, Hekzametilendiamin, 1-Naftilmetilamin, 3-Metoksipiripilamin) eklenmesiyle gerçekleştirilmiş ve sensörün DMSO-PBS (1:1, v / v, 10 mM, pH=7,4) ortamında yalnız hidrazine karşı seçici davrandığı belirlenmiştir.

N₂H₄ ile sensör arasındaki mekanizma UV-Vis ve HPLC teknikleri kullanılarak ortaya konulmuştur. Sensördeki ftalimid grubunun N₂H₄ ilavesiyle bileşikten ayrıldığı ve PET mekanizması yoluyla floresans ışımının olduğu belirlenmiştir.

TLC'den hazırlanan test şeritleri kullanılarak sensörün çözelti ortamında bulunan hidrazini algılama performansı başarılı ve etkin bir şekilde gözlemlenmiştir. Ayrıca sensörün gaz halindeki hidrazine karşı davranışı yine TLC şerit kullanılarak

incelenmiştir. Farklı yüzdelerde sulu hidrazin çözeltilerine maruz bırakılan sensörün 15 dakika içinde renksizden maviye renk değişimi gözlenmiştir. Sonuç olarak, bu iki uygulamadan elde edilen bulgular, bu çalışmada sentezlenen 2-(2-(benzo[d]tiazol-2-il)fenil) izoindolin-1,3-dion sensörünün hidrazin tespiti için seçici ve güvenilir olduğunu ortaya koymuştur.

5.2. Öneriler

Gerçekleştirilen bu çalışmanın devamı olarak, benzotiyazol yapısından yararlanan floresan sensörleri tasarlamak için yeni bir temel geliştirebilir; özellikle hedef analite karşı yüksek seçici, kolay ayarlanabilen ve kimyasal olarak kararlı floroforlar, basit ve ölçeklenebilir bir sentetik strateji kullanılarak kolayca sağlanabilir. Ayrıca hidrazin tespitinde kullanılacak molekülde konjugasyonu artıracak gruplar eklenerek hem floresans şiddeti artırılabilir hem de daha fazla kırmızıya kayma sağlanabilir. Hidrazinin tespit süresini kısaltacak şekilde moleküllerin tasarlanması, sensörün daha iyi performans göstermesini sağlayabilir.

6. KAYNAKLAR

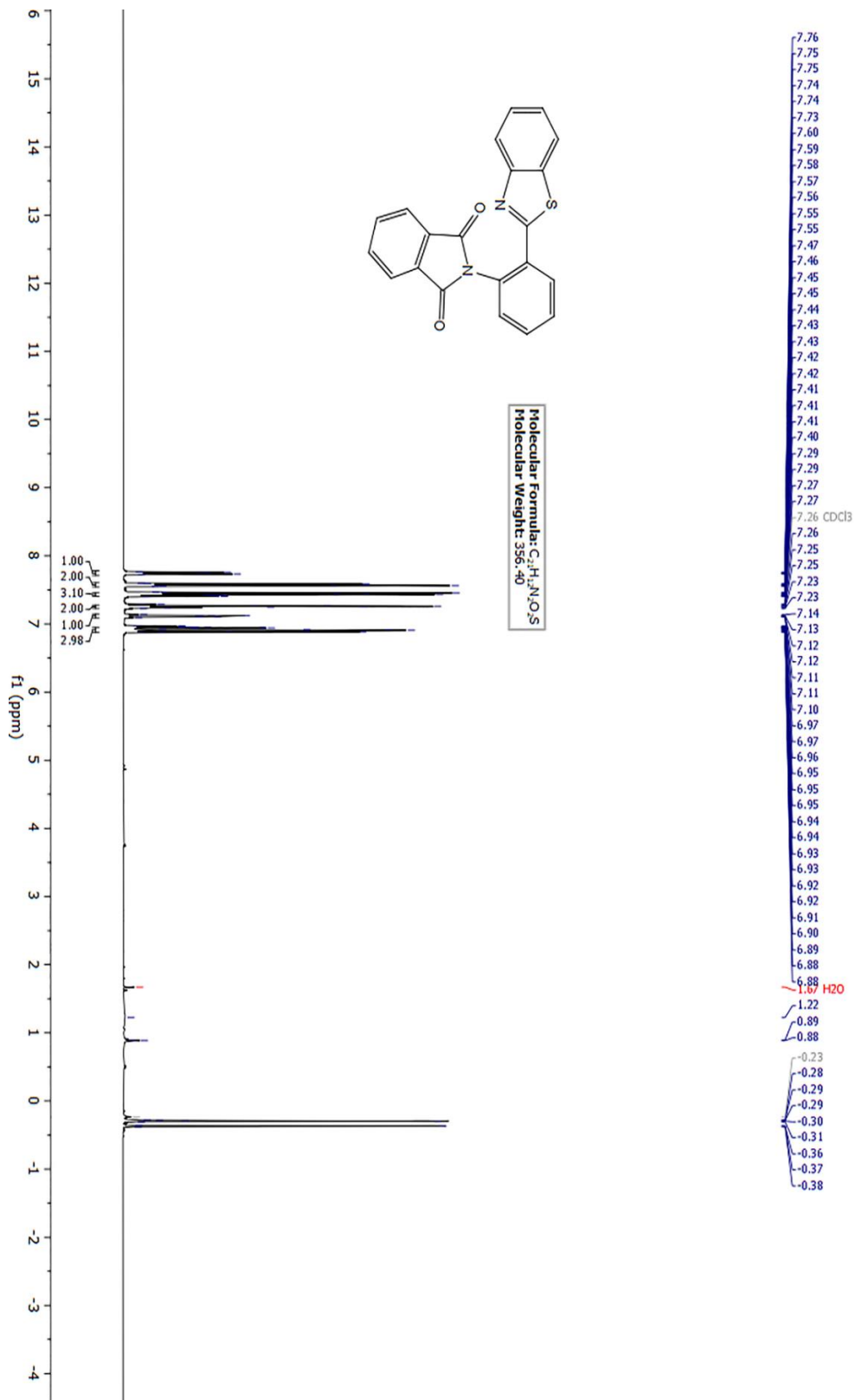
- Bela Toth. (2021). *Hydrazines and Cancer: A Guidebook on the Carcinogenic Activities of Hydrazines, Related Chemicals, and Hydrazine-Containing Natural Products*. ISBN 90-5702-631-7
- Berberan-Santos, M. N. (2008). *Fluorescence of Supramolecules, Polymers, and Nanosystems*. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-540-73928-9> adresinden erişildi.
- Binghe Wang (Editor), E. V. A. (Editor). (2011). *Chemosensors: Principles, Strategies, and Applications*.
- Cara, E. (2009). Synthesis and Co-ordination chemistry of Allosteric systems and Sensors for Zinc Metal Ions.
- Cui, L., Ji, C., Peng, Z., Zhong, L., Zhou, C., Yan, L., ... Xu, Y. (2014). Unique Tri-Output Optical Probe for Specific and Ultrasensitive Detection of Hydrazine. *Analytical Chemistry*, 86(9), 4611–4617. doi:10.1021/AC5007552
- Cui, L., Peng, Z., Ji, C., Huang, J., Huang, D., Ma, J., ... Xu, Y. (2014). Hydrazine detection in the gas state and aqueous solution based on the Gabriel mechanism and its imaging in living cells. *Chemical Communications*, 50(12), 1485–1487. doi:10.1039/C3CC48304E
- Demchenko, A. P. (2015). *Introduction to fluorescence sensing. Introduction to Fluorescence Sensing*. doi:10.1007/978-3-319-20780-3
- Demchenko, A. P. (2010). *Advanced Fluorescence Reporters in Chemistry and Biology I Fundamentals and Molecular Design*. Springer Link.
- Du, J., Li, X., Ruan, S., Li, Y., Ren, F., Cao, Y., ... Li, J. (2020). Rational design of a novel turn-on fluorescent probe for the detection and bioimaging of hydrazine with barbituric acid as a recognition group. *The Analyst*, 145(2), 636–642. doi:10.1039/C9AN02058F
- Elizabeth J. New (Editor). (2022). *Molecular Fluorescent Sensors for Cellular Studies. Molecular Fluorescent Sensors for Cellular Studies*. doi:10.1002/9781119749844
- Fu, Y. ve Finney, N. S. (2018). Small-molecule fluorescent probes and their design. *RSC Advances*, 8(51), 29051–29061. doi:10.1039/c8ra02297f
- Galbraith, E. K. (2010). Conformational Bidentate Fluorescent Sensors for Small Halide Anions.
- Gao, L.-L., Pang, S., Gao, Y., Shi, D. ve Guo, Y. (2022). Recent development of organic small-molecule and nanomaterial fluorescent probes for hydrazine. *Advanced Agrochem*, 1(1), 22–38. doi:10.1016/j.aac.2022.08.003
- Ghiggi, F. F., Pollo, L. D., Cardozo, N. S. M. ve Tessaro, I. C. (2017). Preparation and characterization of polyethersulfone/N-phthaloyl-chitosan ultrafiltration membrane with antifouling property. *European Polymer Journal*, 92, 61–70. doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.04.030
- Gülşen, E. (2018). *Kumarin Temelli Floresan Kemosensörlerin Sentezi Ve Fotofiziksel Özelliklerinin İncelenmesi*. Hacettepe.
- Hiremath, S. D., Gawas, R. U., Das, D., Naik, V. G., Bhosle, A. A., Murali, V. P., ... Chatterjee, A. (2021). Phthalimide conjugation turns the AIE-active tetraphenylethylene unit non-emissive: its use in turn-on sensing of hydrazine in solution and the solid- And vapour-phase. *RSC Advances*, 11(35), 21269–21278. doi:10.1039/d1ra03563k
- Jag Mohan (Author). (2004). *Organic Spectroscopy: Principles and Applications*. Alpha Science International; Second Edition, New edition, Second (January 30, 2004).
- Jain, A., Blum, C. ve Subramaniam, V. (2009). *Fluorescence Lifetime Spectroscopy and*

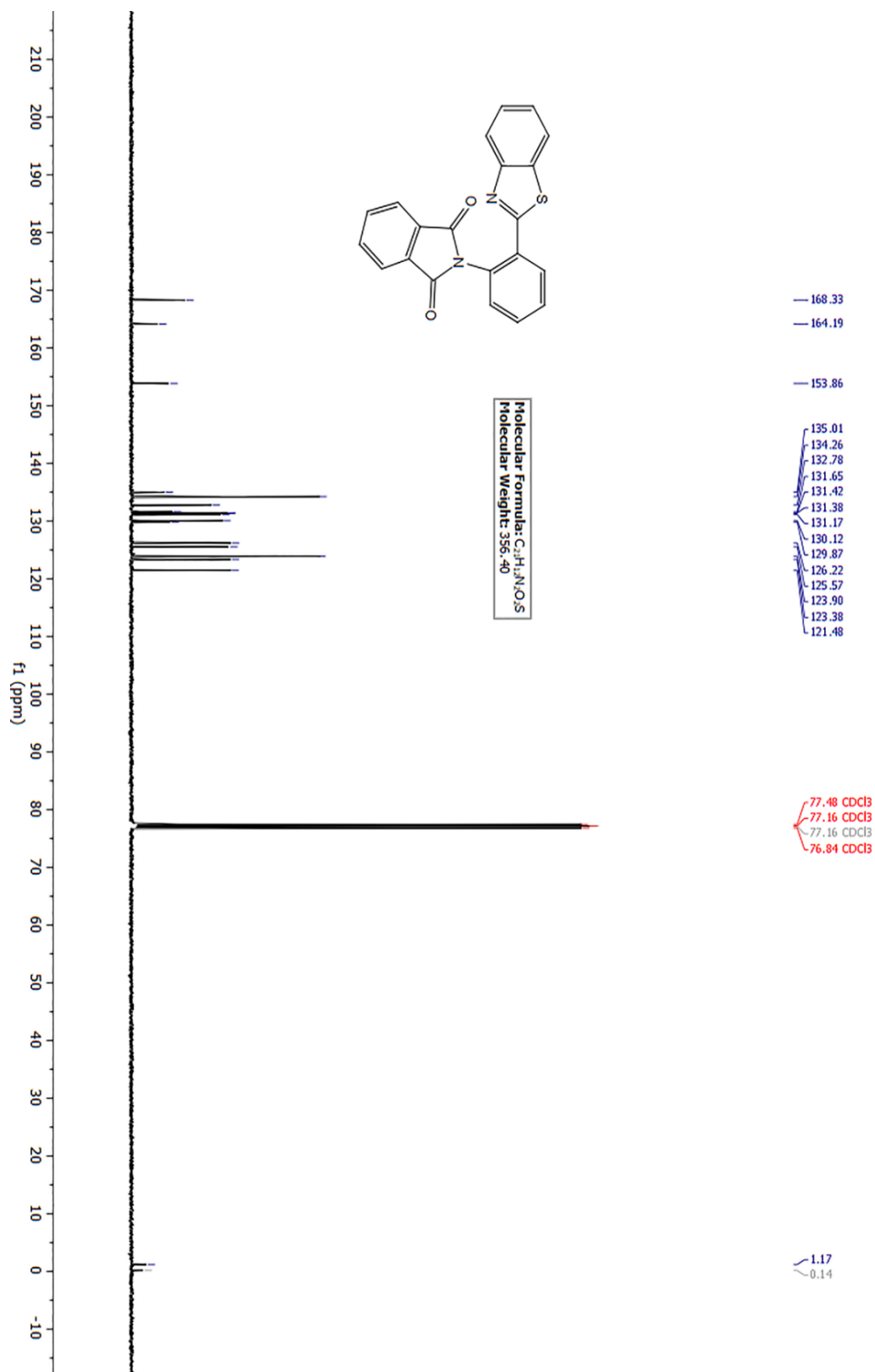
- Imaging of Visible Fluorescent Proteins. Advances in Biomedical Engineering* (First Edit.). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-444-53075-2.00004-6
- Jiang, K., Cao, L., Hao, Z., Chen, M., Cheng, J., Li, X., ... Wang, Z. (2017). Research Progress in Design, Synthesis and Application of Benzothiazole-Based Fluorescent Probes. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 37(9), 2221–2236. doi:10.6023/cjoc201703041
- Jochen Mattay. (1993). *Photoinduced Electron Transfer V.*
- K. C. Patil (Editor), T. M. R. (Editor). (2014). *Inorganic hydrazine derivatives : synthesis, properties, and applications.*
- Kaur, B. ve Islamia, J. M. (2021). The Applications of Interaction between light and chemical reactivity in molecular systems.
- Khan, M. N. (1995). Kinetic Evidence for the Occurrence of a Stepwise Mechanism in the Hydrazinolysis of Phthalimide. *The Journal of Organic Chemistry*, 60(14), 4536–4541. doi:10.1021/jo00119a035
- Lei, J., Wang, B., Li, Y. P., Ji, W. J., Wang, K., Qi, H., ... Zhai, Q. G. (2021). A New Molecular Recognition Concept: Multiple Hydrogen Bonds and Their Optically Triggered Proton Transfer in Confined Metal-Organic Frameworks for Superior Sensing Element. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 13(19), 22457–22465. doi:10.1021/acsami.1c03410
- Li, M., He, J., Wang, Z., Jiang, Q., Yang, H., Song, J., ... Wang, S. (2019). Novel Nopinone-Based Turn-on Fluorescent Probe for Hydrazine in Living Cells with High Selectivity. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 58(51), 22754–22762. doi:10.1021/acs.iecr.9b04413
- Li, X., Yin, J., Liu, W., Yang, Y., Xu, W. ve Li, W. (2019). A Novel Double Fluorescence-Suppressed Probe for the Detection of Hydrazine. *ChemistrySelect*, 4(48), 14069–14074. doi:10.1002/SLCT.201902960
- Lichtman, J. W. ve Conchello, J. A. (2005). Fluorescence microscopy. *Nature Methods*, 2(12), 910–919. doi:10.1038/nmeth817
- Liu, J., Li, T., Wang, S., Qi, Q., Song, H., Li, Z., ... Huang, W. (2020). A sensitive and selective fluorescent probe for hydrazine with a unique nonaromatic fluorophore. *RSC Advances*, 10(10), 5572–5578. doi:10.1039/c9ra10882c
- Liu, T., Yang, L., Feng, W., Liu, K., Ran, Q., Wang, W., ... Fang, Y. (2020). Dual-Mode Photonic Sensor Array for Detecting and Discriminating Hydrazine and Aliphatic Amines. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(9), 11084–11093. doi:10.1021/acsami.0c00568
- Lu, Z., Fan, W., Shi, X., Lu, Y. ve Fan, C. (2017). Two Distinctly Separated Emission Colorimetric NIR Fluorescent Probe for Fast Hydrazine Detection in Living Cells and Mice upon Independent Excitations. *Analytical Chemistry*, 89(18), 9918–9925. doi:10.1021/acs.analchem.7b02149
- Maji, R., Mahapatra, A. K., Maiti, K., Mondal, S., Ali, S. S., Sahoo, P., ... Fun, H.-K. (2016). A highly sensitive fluorescent probe for detection of hydrazine in gas and solution phases based on the Gabriel mechanism and its bioimaging. *RSC Advances*, 6(75), 70855–70862. doi:10.1039/C6RA14212E
- Manna, S. K., Gangopadhyay, A., Maiti, K., Mondal, S. ve Mahapatra, A. K. (2019). Recent Developments in Fluorometric and Colorimetric Chemodosimeters Targeted towards Hydrazine Sensing: Present Success and Future Possibilities. *ChemistrySelect*, 4(24), 7219–7245. doi:10.1002/slct.201803685
- Manoharan, D., Thekkeppat, N. P., Das, P. ve Ghosh, S. (2020). Synthesis and characterisation of halogen substituted benzothiazole compounds. *Materials Today: Proceedings*, 40(xxxx), S224–S229. doi:10.1016/j.matpr.2020.10.658

- Masoumeh Asoumeh Heibati. (2019). *Applications of natural organic matter optical properties for assessing drinking water disinfection and distribution*. Chalmers University of Technology Gothenburg, Sweden.
- Muthu, S., Maheswari, J. U. ve Sundius, T. (2013). Quantum mechanical, spectroscopic studies (FT-IR, FT-Raman, NMR, UV) and normal coordinates analysis on 3-([2-(diaminomethyleneamino)thiazol-4-yl]methylthio)-N'-sulfamoylpropanimidamide. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 108, 307–318. doi:10.1016/j.saa.2013.02.022
- Nagarajan, S., Majumder, S., Sharma, U., Rajendran, S., Kumar, N., Chatterjee, S. ve Singh, B. (2013). Synthesis and anti-angiogenic activity of benzothiazole, benzimidazole containing phthalimide derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(1), 287–290. doi:10.1016/J.BMCL.2012.10.106
- Nguyen, K. H., Hao, Y., Chen, W., Zhang, Y., Xu, M., Yang, M. ve Liu, Y. N. (2018). Recent progress in the development of fluorescent probes for hydrazine. *Luminescence*, 33(5), 816–836. doi:10.1002/BIO.3505
- Pournaki, M., Fallah, A., Gülcan, H. O. ve Gazi, M. (2021). A novel chitosan based fluorescence chemosensor for selective detection of Fe (III) ion in acetic aqueous medium. *Materials Technology*, 36(2), 91–96. doi:10.1080/10667857.2020.1730565
- Qiu, J., Chen, Y., Jiang, S., Guo, H. ve Yang, F. (2018). A fluorescent sensor based on aggregation-induced emission: highly sensitive detection of hydrazine and its application in living cell imaging. *Analyst*, 143(18), 4298–4305. doi:10.1039/c8an00863a
- Qu, D. Y., Chen, J. L. ve Di, B. (2014). A fluorescence “switch-on” approach to detect hydrazine in aqueous solution at neutral pH. *Analytical Methods*, 6(13), 4705–4709. doi:10.1039/c4ay00533c
- Ramakrishnam Raju, M. V., Chandra Prakash, E., Chang, H. C. ve Lin, H. C. (2014). A facile ratiometric fluorescent chemodosimeter for hydrazine based on Ing-Manske hydrazinolysis and its applications in living cells. *Dyes and Pigments*, 103, 9–20. doi:10.1016/j.dyepig.2013.11.015
- Ren, T. B., Xu, W., Zhang, W., Zhang, X. X., Wang, Z. Y., Xiang, Z., ... Zhang, X. B. (2018). A General Method to Increase Stokes Shift by Introducing Alternating Vibronic Structures. *Journal of the American Chemical Society*, 140(24), 7716–7722. research-article. doi:10.1021/jacs.8b04404
- Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David J. Kiemle, D. L. B. (2014). *Spectrometric Identification of Organic Compounds, 8th Edition*.
- Roy, B. ve Bandyopadhyay, S. (2018). The design strategies and mechanisms of fluorogenic and chromogenic probes for the detection of hydrazine. *Analytical Methods*, 10(10), 1117–1139. doi:10.1039/C7AY02866K
- Rukiye Ayranc. (y.y.). *Floresans grup içeren iletken polimerlerin sentezi, elektrokromik ve sensör uygulamaları*. <http://acikerisim.pau.edu.tr/> adresinden erişildi.
- Samanta, S. K., Maiti, K., Ali, S. S., Guria, U. N., Ghosh, A., Datta, P. ve Mahapatra, A. K. (2020). A solvent directed D- π -A fluorescent chemodosimeter for selective detection of hazardous hydrazine in real water sample and living cell. *Dyes and Pigments*, 173, 107997. doi:10.1016/J.DYEPIG.2019.107997
- Sencer Selçuk. (2010). *Selective manipulation of ICT and PET processes in styryl-bodipy derivatives: applications in molecular logic and fluorescence sensing of metal ions*. Bilkent University.
- Shi, X., Yin, C., Zhang, Y., Wen, Y. ve Huo, F. (2019). A novel ratiometric and colorimetric fluorescent probe for hydrazine based on ring-opening reaction and its

- applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 285, 368–374. doi:10.1016/J.SNB.2019.01.075
- Siraj, N., El-Zahab, B., Hamdan, S., Karam, T. E., Haber, L. H., Li, M., ... Warner, I. M. (2016). Fluorescence, Phosphorescence, and Chemiluminescence. *Analytical Chemistry*, 88(1), 170–202. doi:10.1021/acs.analchem.5b04109
- So, Y.-H., Zaleski, J. M., Murlick, C. ve Ellaboudy, A. (1996). Synthesis and Photophysical Properties of Some Benzoxazole and Benzothiazole Compounds. *Macromolecules*, 29(8), 2783–2795. doi:10.1021/ma951431i
- Steinegger, A., Wolfbeis, O. S. ve Borisov, S. M. (2020). Optical Sensing and Imaging of pH Values: Spectroscopies, Materials, and Applications. *Chemical Reviews*, 120(22), 12357–12489. doi:10.1021/acs.chemrev.0c00451
- Tang, T., Chen, Y. Q., Fu, B. S., He, Z. Y., Xiao, H., Wu, F., ... Zhou, X. (2016). A novel resorufin based fluorescent “turn-on” probe for the selective detection of hydrazine and application in living cells. *Chinese Chemical Letters*, 27(4), 540–544. doi:10.1016/j.ccllet.2016.01.024
- Tang, Y., Lee, D., Wang, J., Li, G., Yu, J., Lin, W. ve Yoon, J. (2015). Development of fluorescent probes based on protection-deprotection of the key functional groups for biological imaging. *Chemical Society Reviews*, 44(15), 5003–5015. doi:10.1039/c5cs00103j
- Taşkıran, Ş. (2005). 4'-Didodesil-3-hidroksiflavon Temelli Floresan Problemlerin Sentez ve Tasarımları.
- Tümay, S. O., Haddad Irani-nezhad, M. ve Khataee, A. (2020). Design of novel anthracene-based fluorescence sensor for sensitive and selective determination of iron in real samples. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 402(August). doi:10.1016/j.jphotochem.2020.112819
- Tunçer, N. (2021). *Yüksek Ph Değerlerinde Çalışan Bodipy Tabanlı Floresan pH Sensörlerinin Tasarımı Ve Sentezi*. Hacettepe.
- Wang, L., Liu, F. Y., Liu, H. Y., Dong, Y. S., Liu, T. Q., Liu, J. F., ... Wan, X. J. (2016). A novel pyrazoline-based fluorescent probe for detection of hydrazine in aqueous solution and gas state and its imaging in living cells. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 229, 441–452. doi:10.1016/J.SNB.2016.02.001
- Wu, J., Liu, W., Ge, J., Zhang, H. ve Wang, P. (2011). New sensing mechanisms for design of fluorescent chemosensors emerging in recent years. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3483–3495. doi:10.1039/c0cs00224k
- Xie, J., Wang, L., Su, X. ve Rodrigues, J. (2021). Coumarin-based Fluorescent Probes for Bioimaging: Recent Applications and Developments. *Current Organic Chemistry*, 25(18), 2142–2154. doi:10.2174/1385272825666210728101823
- Xu, W., Li, X., Yin, J., Liu, W., Yang, Y. ve Li, W. (2019). A new fluorescent turn-on dual interaction position probe for determination of hydrazine. *Analytical Sciences*, 35(12), 1341–1345. doi:10.2116/analsci.19P229
- Xu, W., Liu, W., Zhou, T., Yang, Y. ve Li, W. (2018). A novel PBT-based fluorescent probe for hydrazine detection and its application in living cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 356, 610–616. doi:10.1016/j.jphotochem.2018.02.004
- Yan, L., Zhang, S., Xie, Y., Mu, X. ve Zhu, J. (2020). Recent Progress in the Development of Fluorescent Probes for the Detection of Hydrazine (N₂H₄). <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1797464>. doi:10.1080/10408347.2020.1797464
- Yuan, Y., Wang, D., Long, W., Deng, F., Yu, S., Tian, J., ... Wei, Y. (2021). Ratiometric fluorescent detection of hypochlorite in aqueous solution and living cells using an

- ionic probe with aggregation-induced emission feature. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 330(December 2020), 129324. doi:10.1016/j.snb.2020.129324
- Zhang, F., Du, T., Jiang, L., Zhu, L. ve Tian, D. (2022). A combined “AIE + ESIPT” fluorescent probe for detection of lipase activity. *Bioorganic Chemistry*, 128(July), 106026. doi:10.1016/j.bioorg.2022.106026
- Zhang, J., Ning, L., Liu, J., Wang, J., Yu, B., Liu, X., ... Zhang, H. (2015). Naked-Eye and Near-Infrared Fluorescence Probe for Hydrazine and Its Applications in In Vitro and in Vivo Bioimaging. *Analytical Chemistry*, 87(17), 9101–9107. doi:10.1021/acs.analchem.5b02527
- Zhang, X. Y., Yang, Y. S., Wang, W., Jiao, Q. C. ve Zhu, H. L. (2020). Fluorescent sensors for the detection of hydrazine in environmental and biological systems: Recent advances and future prospects. *Coordination Chemistry Reviews*, 417, 213367. doi:10.1016/J.CCR.2020.213367
- Zhou, R., Lu, X., Yang, Q. ve Wu, P. (2019). Nanocrystals for large Stokes shift-based optosensing. *Chinese Chemical Letters*, 30(10), 1843–1848. doi:10.1016/j.ccllet.2019.07.062
- Zimmermann, J., Zeug, A. ve Röder, B. (2003). A generalization of the Jablonski diagram to account for polarization and anisotropy effects in time-resolved experiments. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 5(14), 2964–2969. doi:10.1039/b303138a

EKLEREK-1 Sensörün ^1H NMR spektrumu.

EK-2 Sensörün ^{13}C NMR spektrumu.

EK-3 Sensörün FT-IR spektrumu.

