

**MİSEL İÇEREN ORTAMLARDA KUMARİN 35 İLE
PYRONİN BİLEŞİKLERİ ARASINDAKİ FLORESANS
ENERJİ TRANSFERİNİN İNCELENMESİ**

Metin SEZER
Yüksek Lisans Tezi
Kimya Anabilim Dalı
Prof. Dr. Yavuz ONGANER
2010
Her Hakkı Saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MİSEL İÇEREN ORTAMLARDA KUMARİN 35 İLE PYRONİN
BİLEŞİKLERİ ARASINDAKİ FLORESANS ENERJİ
TRANSFERİNİN İNCELENMESİ**

Metin SEZER

KİMYA ANABİLİM DALI

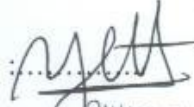
ERZURUM

2010


Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Yavuz ONGANER danışmanlığında, **Metin SEZER** tarafından hazırlanan bu çalışma **02 / 04 / 2010** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

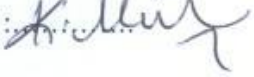
Başkan : Prof. Dr. Yavuz ONGANER

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Hasan EFEOĞLU

İmza : 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Kadem MERAL

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ömer AKBULUT
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MİSEL İÇEREN ORTAMLARDA KUMARİN 35 İLE PYRONİN BİLEŞİKLERİ ARASINDAKİ FLORESANS ENERJİ TRANSFERİNİN İNCELENMESİ

Metin SEZER

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz ONGANER

Bu tez çalışmasında, Sodyum Dodesil Sülfat (SDS), Triton X-100 (TX-100) ve Hekzadesiltrimetilamonyum Bromür (CTAB) misellerini içeren ortamlarda, Kumarin 35 (C35) ile Pyronin Y (PyY) ve Pyronin B (PyB) arasındaki floresans enerji transferi incelendi. Bu çalışmada C35 donör molekülü olup, PyB ve PyY akseptör molekülüdür.

TX-100 ve CTAB misellerini içeren ortamlarda, PyY-C35 ve PyB-C35'in floresans enerji transferi için uygun molekül çiftleri olmadıkları belirlendi. Floresans enerji transferinde önemli bir şart olan donörün emisyon spektrumu ile akseptörün absorpsiyon spektrumlarının örtüşmesi SDS ortamında her iki molekül çifti için iyi bir oranda meydana geldi. C35 konsantrasyonu sabit tutulup, farklı PyB konsantrasyonlarında alınan emisyon spektrumlarında, C35'e ait floresans bandının şiddetinde bir azalma ve PyB'ye ait floresans bandının şiddetinde bir artma gözlemlendi. C35-PyY molekül çifti için de benzer olaylar gözlemlendi. Gerçekleşen bu floresans enerji transferi Stern-Volmer eşitliğine ve Förster teorisine göre tartışıldı. Förster teorisine göre hesaplanan Förster mesafesi (R_0) ve enerji transfer verimliliği değerleri, her iki molekül çifti için yakın değerlere sahip olduğu bulundu.

2010, 53

Anahtar Kelimeler: Sodyum dodesil sülfat, Triton X-100, Hekzadesiltrimetilamonyum bromür, Kumarin35, Pyronin bileşikleri, Förster teorisi, enerji transferi

ABSTRACT

Master Thesis

AN INVESTIGATION OF FLUORESCENCE ENERGY TRANSFER BETWEEN COUMARIN 35 AND PYRONIN DYES IN MICELLAR MEDIA Metin SEZER

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz ONGANER

In this thesis, the fluorescence energy transfer between coumarin 35 (C35) and Pyronin Y (PyY) and Pyronin B (PyB) molecules in micellar media containing sodium dodecyl sulfate (SDS), Triton X-100 (TX-100) and hexadecyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) were investigated. In the experiments, PyB and PyY are acceptor molecules while C35 is the donor molecule.

PyY-C35 and PyB-C35 were determined as unsuitable molecular pairs for the fluorescence energy transfer in TX-100 and CTAB micellar solutions. Overlap of acceptor absorption spectrum with donor emission spectrum that is an important condition in the fluorescence energy transfer occurred at a good rate for each molecular pairs in the micellar solution containing SDS. When C35 concentration was kept constant, by increasing PyB concentrations in micellar solution, it was observed that fluorescence intensity of C35 fluorescence peak decreased as PyB fluorescence intensity peak increased. The similar behavior was observed for C35-PyY molecular pairs in SDS containing micellar solution. Fluorescence energy transfers were discussed according to the Stern-Volmer equation and the Förster theory. Förster distance (R_0) and energy transfer efficiency values calculated according to Förster theory have been found almost the same for each pair of the molecules, PyY-C35 and PyB-C35.

2010, 53

Keywords: Sodium dodecyl sulfate, Triton X-100, Hexadecyltrimethylammonium bromide, Coumarin 35, Pyronin dyes, Förster theory, energy transfer

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarımın her aşamasında desteğini esirgemeyen, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım çok değerli tez hocam Sayın Prof. Dr. Yavuz ONGANER'e derin minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa ARIK'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında her türlü imkanı sağlayan Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU ve Kimya Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Nurullah SARAÇOĞLU'na teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında bilgi ve tecrübesiyle yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşım Sayın Arş. Gör. Mahmut TOPRAK'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince ilgili yardımlarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Kadem MERAL'e, Sayın Arş. Gör. Burcu Meryem AYDIN'a ve tüm Kimya Bölümü elemanlarına teşekkür ederim.

Bu tez çalışmam süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok değerli aileme derin minnet ve şükranlarımı sunarım.

Metin SEZER

Nisan 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	20
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER	24
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	24
3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	24
3.3. Numunelerin Hazırlanması.....	24
3.4. Yöntemler.....	25
3.4.1 Floresans ve absorpsiyon spektrumlarının alınması ve absorbans ölçümleri.....	25
3.4.2. Kritik misel konsantrasyonun belirlenmesi.....	25
3.4.3 Kuantum veriminin hesaplanması.....	25
3.4.4 Floresans ömür ölçümleri.....	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	28
5. SONUÇ	50
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	54

SİMGELER DİZİNİ

D_r	Referansın Düzeltilmiş Floresans Spektrumu Altındaki Alan
D_s	Numunenin Düzeltilmiş Floresans Spektrumu Altındaki Alan
I_D	Donorun Floresans Şiddeti
I_{DA}	Donor ve Akseptör İçeren Numunedeki Donorun Floresans Şiddeti
J	Donor-Akseptör Örtüşme Alanı İntegrali
K_a	Bire Bir Kompleks Oluşturma Sabiti
k_q	Bimoleküler Dinamik Kuençleşme Hız Sabiti
τ	Floresans Ömrü
K_{sv}	Stern-Volmer sabiti
k_f	Floresans Durulma Hız Sabiti
N	Avogadro Sayısı
n	Kırılma İndisi
n_r	Referansın Bulunduğu Ortamın Kırılma İndisi
n_s	Numunenin Bulunduğu Ortamın Kırılma İndisi
OD	Optik Yoğunluk
OD_s	Numunenin Uyarılma Dalga Boyunda Ölçülen Optik Yoğunluğu
r	Donor ile Akseptör Arasındaki Uzaklık
R_0	Förster Mesafesi
ϵ	Molar Absorpsiyon Katsayısı
ϕ_f	Floresans Kuantum Verimi
Φ_r	Referans Kuantum Verimi
ϕ_D	Ortamda Akseptörün Bulunmadığı Andaki Donorun Kuantum Verimi
τ_D	Ortamda Akseptör Bulunmadığı Andaki Donorun Floresans Ömrü
τ_{DA}	Ortamda Akseptör Olduğu Durumda Donorun Floresans Ömrü
λ	Dalga Boyu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Elektromanyetik radyasyonun dalga hareketi.....	1
Şekil 1.2 Elektronik yapıların temsili gösterimi	3
Şekil 1.3 Jablonski diyagramı.....	4
Şekil 1.4 Monomoleküler deaktivasyon prosesleri	7
Şekil 1.5 Bimoleküler deaktivasyon prosesleri.....	7
Şekil 1.6 Floresans enerji transfer prosesinin temsili gösterimi.....	10
Şekil 1.7 Floresans enerji transferinde donör ve akseptör arasındaki mesafenin Önemini gösteren şekil.....	11
Şekil 1.8 Donör ve akseptör moleküllerinin spektral örtüşmesi	12
Şekil 1.9 Förster mesafesini gösteren temsili grafik.....	15
Şekil 1.10 Kumarin 35'in moleküler yapısı.....	17
Şekil 1.11 Pyronin B ve Pyronin Y bileşiklerinin moleküler yapıları.....	18
Şekil 1.12 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)'in kimyasal yapısı.....	19
Şekil 1.13 Hekzadesiltrimetilamonyum bromür (CTAB)'ün kimyasal yapısı.....	19
Şekil 1.14 Triton X-100 (TX-100)'ün kimyasal yapısı.....	19
Şekil 3.1 Stroboskopik tekniğin şematik gösterimi.....	26
Şekil 3.2 Dedektörün veri kaydetmesinin şematik gösterimi.....	27
Şekil 4.1 C35 molekülünün farklı SDS konsantrasyonlarındaki maksimum floresans şiddeti	28
Şekil 4.2 C35 molekülünün farklı TX-100 konsantrasyonlarındaki maksimum floresans şiddeti	29
Şekil 4.3 C35 molekülünün farklı CTAB konsantrasyonlarındaki maksimum floresans şiddeti	29
Şekil 4.4 C35'in SDS ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları.....	30
Şekil 4.5 C35'in TX-100 ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları	31
Şekil 4.6 C35'in CTAB ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları ..	31
Şekil 4.7 PyY bileşiğinin CTAB ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları.....	32

Şekil 4.8 PyY bileşiğinin SDS ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları.....	32
Şekil 4.9 PyY bileşiğinin TX-100 ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları.....	33
Şekil 4.10 PyB bileşiğinin CTAB ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları.....	33
Şekil 4.11 PyB bileşiğinin SDS ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları.....	34
Şekil 4.12 PyB bileşiğinin TX-100 ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları.....	34
Şekil 4.13 C35'in CTAB, TX-100 ve SDS ortamlarında floresans durulma spektrumu.....	35
Şekil 4.14 TX-100 (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyY konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları.....	37
Şekil 4.15 TX-100 (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyB konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları.....	37
Şekil 4.16 CTAB (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyY konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları.....	38
Şekil 4.17 CTAB (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyB konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları.....	38
Şekil 4.18 SDS (mM) ortamında C35 ile PyB molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi..	39
Şekil 4.19 SDS (mM) ortamında C35 ile PyY molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi	40
Şekil 4.20. TX-100 (mM) ortamında C35 ile PyB molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi	40
Şekil 4.21. TX-100 (mM) ortamında C35 ile PyY molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi	41
Şekil 4.22. CTAB (mM) ortamında C35 ile PyB molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi	41
Şekil 4.23. CTAB (mM) ortamında C35 ile PyY molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi	42

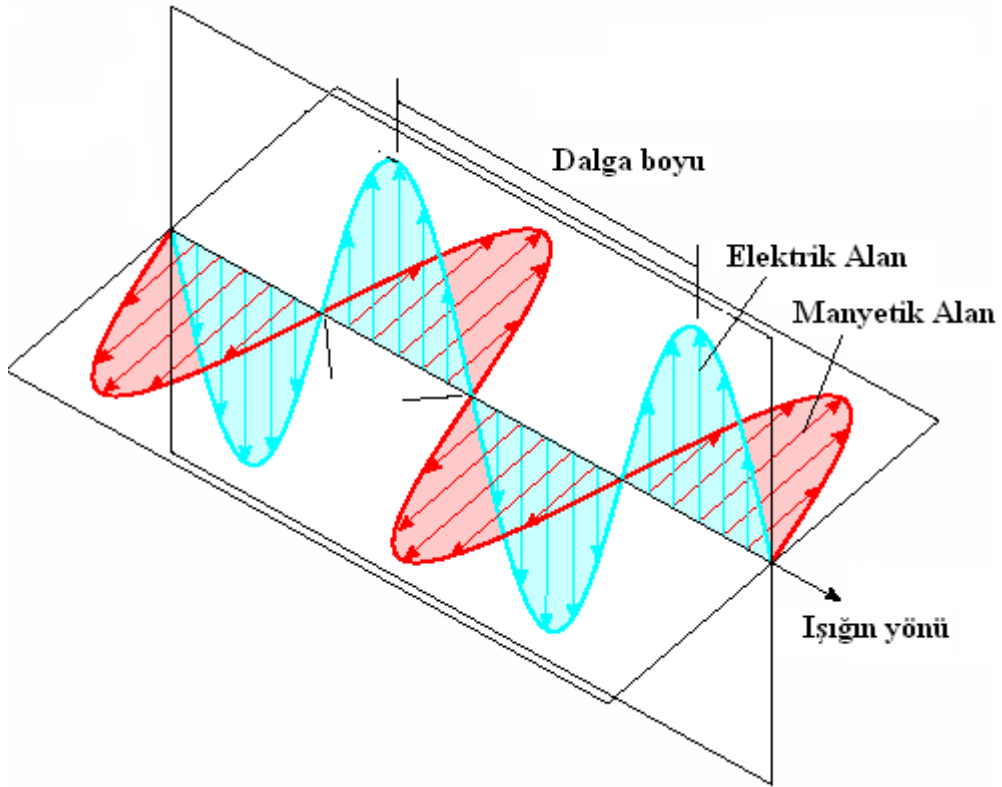
Şekil 4.24 SDS (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyY konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları.....	43
Şekil 4.25 SDS (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyB konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları.....	44
Şekil 4.26 SDS ortamında C35'in artan PyY konsantrasyonuna karşı çizilmiş Stern- Volmer grafiği.....	45
Şekil 4.27 SDS ortamında C35'in artan PyB konsantrasyonuna karşı çizilmiş Stern- Volmer grafiği.....	45
Şekil 4.28 SDS ortamında C35- PyY molekül çifti için enerji transfer verimliliği.....	47
Şekil 4.29 SDS ortamında C35- PyB molekül çifti için enerji transfer verimliliği.....	48
Şekil 4.30 SDS ortamında artan PyY konsantrasyonuna bağlı olarak C35-PyY molekül çiftinin düzeltilmiş floresans spektrumu.....	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 25°C’de çalışılan C35 molekülü için SDS, TX-100 ve CTAB ortamındaki kritik misel konsantrasyon (CMC) değerleri	30
Çizelge 4.2 25°C’de çalışılan C35 molekülünün kritik misel konsantrasyonundaki bazı fotofiziksel özellikleri.....	35
Çizelge 4.3 25°C’de çalışılan sürfaktant konsantrasyonlarında sırasıyla PyB ve PyY moleküllerinin bazı fotofiziksel özellikleri	36
Çizelge 4.4 C35’in SDS ortamında değişik PyY ve PyB konsantrasyonlarındaki floresans kuantum verimleri.....	46
Çizelge 4.5 SDS ortamındaki enerji transfer parametreleri.....	48

1. GİRİŞ

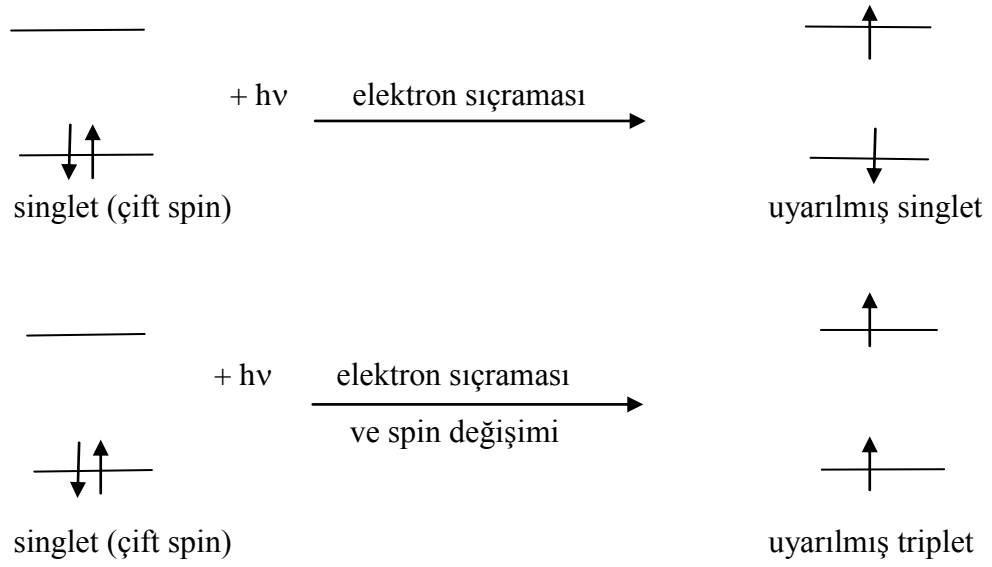
Enerji transferinin temelinde, ışığın madde ile etkileşimi vardır. Bu nedenle, ışık ve ışığın özelliklerinin iyi bilinmesi enerji transfer proseslerinin anlaşılmasında faydalı olacaktır. Işık, sinüzoidal dalgalar halinde hareket eden, belli bir enerjiye sahip elektromanyetik radyasyon paketidir (Skoog and Leary 1992). Işık sadece dalgadan ibaret olmadığı aynı zamanda tanecik özelliğine de sahip olduğu siyah cisim ışıması ve fotoelektrik deneyi ile ispatlanmıştır. Elektromanyetik radyasyonun bileşenleri temsili olarak Şekil 1.1’de gösterilmektedir (Toprak 2006).



Şekil 1.1. Elektromanyetik radyasyonun dalga hareketi

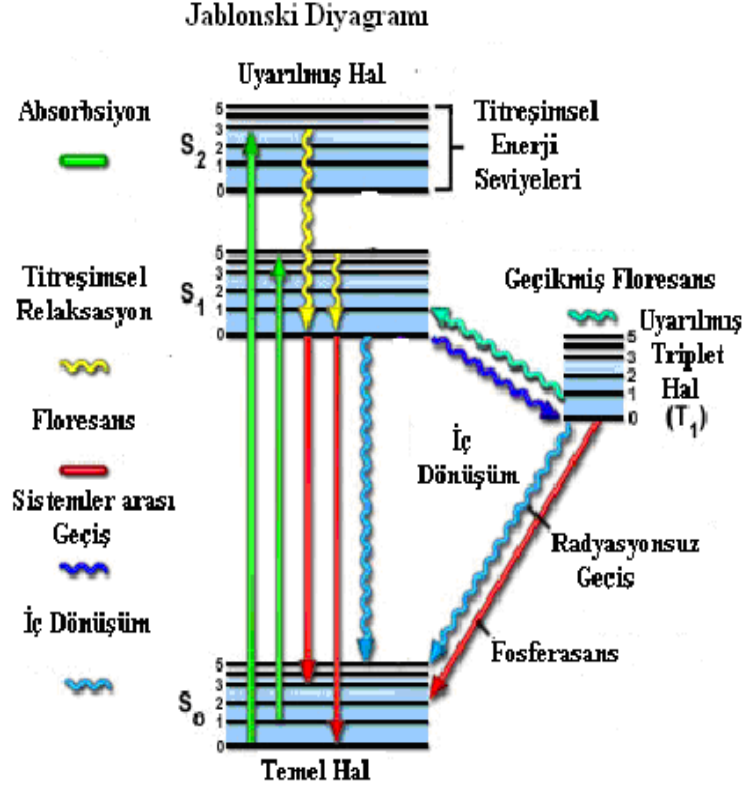
Şekil 1.1’de gösterildiği gibi elektromanyetik radyasyon, bir birine dik manyetik alan ve elektrik alan vektöründen oluşmaktadır. Burada elektromanyetik radyasyonun maddelerle etkileşmesinden elektrik alan vektörü sorumludur. Elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşmesi sonrasında oluşan olayları inceleyen bilim dalı

spektroskopi olarak bilinir. Fotofiziksel olaylarda enerjinin ilgilenilen sistemler için çeşitli hallere dönüşümü söz konusu iken, fotokimyasal olaylarda enerji, kimyasal değişimlere neden olmaktadır. Elektromanyetik radyasyonun herhangi bir molekülle etkileşmesi sonucu ilgili molekülün dönme, ötelenme, titreşim ve elektronik uyarılma hallerinin oluşmasına sebep olur. Molekülün dipol momenti ile elektromanyetik radyasyonun elektrik alan vektörünün etkileşmesi sonucunda bir absorpsiyon olayı gerçekleşir. Absorpsiyon, temel elektronik enerji seviyesinde bulunan valans elektronlarının uyarılmış elektronik enerji seviyesine geçmesidir. Bu enerji seviyeleri titreşimsel enerji seviyelerinden meydana geldiğinden dolayı absorplanan enerjiye bağlı olarak valans elektronları bu titreşimsel enerji seviyelerinden herhangi birinde bulunabilirler. Elektromanyetik radyasyonun absorpsiyonu sonucu uyarılmış enerji seviyesinde bulunan molekülün kararlı hali olan temel hale geçmesi için takip edeceği iki yol vardır. Bunlardan birincisinde, sistem almış olduğu enerjiyi moleküler çarpışmalar sonucunda ışımaz bir şekilde ısı olarak kaybeder. Bu ısı ortamın sıcaklığını artıracak kadar yüksek değildir. Lüminesans olarak bilinen ikinci olayda ise sistem uyarılma enerjisini ışıma yaparak kaybeder. Işımalı geçiş, temel ve uyarılmış halin elektronik yapısına bağlı olarak floresans veya fosforesans olarak adlandırılan iki farklı şekilde gerçekleşmektedir. Floresans singlet uyarılmış halden, fosforesans ise triplet uyarılmış halden singlet temel hale olan ışımalı geçişleri temsil etmektedir. Singlet ve triplet uyarılmış haller elektronun spini bakımından bir birinden farklıdır. Singlet uyarılmış halde bulunan elektronun spini, singlet temel hale göre zıt yönlü iken, triplet uyarılmış haldeki elektronun spini ise singlet temel hale göre aynı yönlüdür. Bu kısımda belirtilen elektronik yapıların temsili gösterimi Şekil 1.2’de verilmiştir.



Şekil 1.2. Elektronik yapıların temsili gösterimi

Burada, singlet uyarılmış halin enerjisi ile triplet uyarılmış halin enerjisinin farklı olduğuna dikkat edilmelidir. Aynı konfigürasyonlar için singlet uyarılmış halin enerjisi triplet uyarılmış halin enerjisine göre daha yüksektir. Molekülün elektromanyetik radyasyonla etkileşmesi sonucunda oluşacak prosesler Şekil 1.3’de Jablonski diyagramında verilmiştir (Toprak 2006).



Şekil 1.3. Jablonski diyagramı

Jablonski diyagramında,

S₀: Singlet temel hali

S₁: Uyarılmış 1. singlet elektronik enerji seviyesini

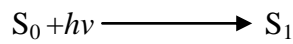
S₂: Singlet 2. uyarılmış hali

T₁: Triplet uyarılmış hali temsil etmektedir.

Ayrıca temel ve uyarılmış halde 0, 1, 2, 3, ... ile tanımlanan çizgiler titreşimsel enerji seviyelerini göstermektedir.

Jablonski diyagramıyla verilen basamakları kısaca açıklayacak olursak;

Absorpsiyon: Singlet temel halden (S₀) singlet uyarılmış hale (S₁ veya S₂) olan elektronik bir geçiştir. Absorpsiyon;



şeklinde gösterilir ve 10^{-15} s gibi kısa bir zamanda gerçekleşen bir prosestir. Bu geçiş spektroskopik olarak izinli bir geçiştir. Elektromanyetik radyasyonun absorpsiyonu sonucu singlet temel halden (S_0) triplet uyarılmış hale (T_1) elektronik geçiş ise fotofiziksel olarak yasaklı bir geçiştir. Sistemin triplet uyarılmış halleri ancak singlet uyarılmış haller üzerinden oluşturulabilir.

Floresans: Bu olay fotofiziksel olarak izinli bir elektronik geçiş basamağı olup, singlet uyarılmış halden singlet temel hale olan ışmalı bir geçiştir. Floresans 10^{-8} s veya 10^{-9} s gibi kısa bir zaman aralığında gerçekleşmektedir.

Fosforesans: Bu olay triplet uyarılmış halden singlet temel hale olan ışmalı bir geçiştir. Fosforesans olayında bir spin değişimi söz konusu olduğundan bu geçiş fotofiziksel olarak spin bakımından yasaklı bir geçiştir. Fosforesans 10^{-4} ile 1 saniyelik zaman aralığında meydana gelir.

Sistemler Arası Geçiş: Triplet uyarılmış halden singlet uyarılmış hale ya da singlet uyarılmış halden triplet uyarılmış hale geçiş olayıdır. Bu olayın olabilmesi için her iki halin titreşim enerji seviyelerinin çakışması gerekmektedir.

Titreşimsel Durulma: Elektronik enerji seviyeleri titreşim enerji seviyelerine bunlar da rotasyonel enerji seviyelerine yarılmıştır. Sistem uyarıldığı zaman molekül uyarılmış enerji seviyesindeki herhangi bir titreşimsel enerji seviyesine çıkar. Temel hale dönmek için uyarılmış enerji seviyesindeki en düşük titreşim enerji seviyesine gelmek zorundadır. Bu olay ışımsız meydana gelmekte olup sistem enerjisini etrafındaki diğer moleküllerle veya çözücü molekülleriyle çarpışarak harcar.

İç Dönüşüm: Bu olay ışımsız gerçekleşen bir prosestir. Çoğunlukla aynı elektronik hallerin uyarılmış enerji seviyeleri arasında olabileceği gibi, singlet uyarılmış halden singlet temel hale olan geçişler de iç dönüşüm olarak adlandırılır. Sistem almış olduğu uyarılma enerjisini temel hale geçerken dışarıya ısı olarak vermektedir. Fakat bu ısı enerjisi sistemin sıcaklığını değiştirecek kadar fazla olmayıp sadece moleküllerin

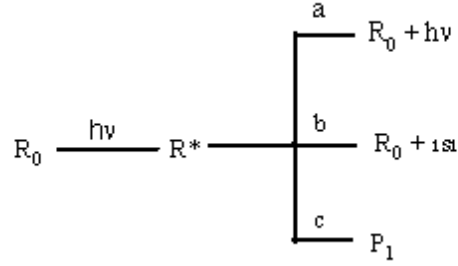
kinetik enerjilerinde artışa sebep olacak düzeydedir. İç dönüşüm zaman bakımından genellikle 10^{-12} s'de gerçekleşir.

Gecikmiş Floresans: Gecikmiş floresans, normal floresansa göre daha uzun sürede gerçekleşen bir proses olup, oluşum şekline göre E-türü ve P-türü olmak üzere iki çeşittir.

E-Türü Gecikmiş Floresans: Elektronik uyarılma sonucu temel halden singlet uyarılmış hale transfer olan moleküller, sistemler arası geçişle triplet uyarılmış hale transfer olur. Bu esnada sistemin sıcaklığı artırılırsa enerji aktarımı yoluyla triplet uyarılmış haldeki moleküller tekrar (ancak bunun için uyarılmış singlet ve triplet hallerin titreşim enerji seviyelerinin çakışması gerekir) singlet uyarılmış hale geri döner. Sonuçta singlet uyarılmış halden temel hale ışımali bir geçiş gerçekleşir. Bu olay E- Türü gecikmiş floresans olarak adlandırılır.

P-Türü Gecikmiş Floresans: Bu olayda singlet uyarılmış hali oluşan moleküller, sistemler arası geçişle triplet uyarılmış hale geçiş yapar. Bu olaydan sonra triplet uyarılmış haldeki moleküllerin birbirleriyle etkileşmesi sonucu enerjilerini birbirlerine aktararak bazı triplet uyarılmış haldeki moleküller tekrar singlet uyarılmış hale çıkarken, enerjisini birbirine transfer eden triplet haldeki moleküller ışımatsız biçimde singlet temel hale döner. Singlet uyarılmış haldeki moleküller ise ışımali bir biçimde temel hale dönerler. Bu olay P-Türü gecikmiş floresans olarak adlandırılır.

Uyarılmış halin deaktivasyonu, Jablonski diyagramında anlatılan fotofiziksel olaylar üzerinden gerçekleşebileceği gibi, fotokimyasal olaylarla da gerçekleşebilir. Fotokimyasal prosesler genellikle uyarılmış hal üzerinden gerçekleşmektedir. Fotokimyasal olaylar monomoleküler (tek moleküllü) veya bimoleküler (iki moleküllü) olarak gerçekleşmektedir. Monomoleküler olarak gerçekleşen prosesler temsili olarak Şekil 1.4'de verilmiştir.

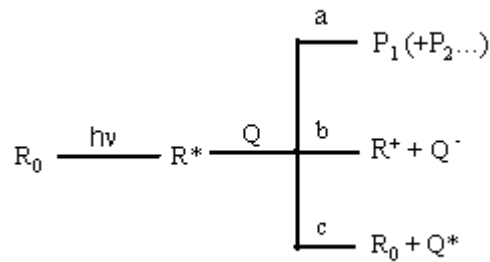


Şekil 1.4. Monomoleküler deaktivasyon prosesleri

Şekil 1.4’de deaktivasyon proseslerinden a ve b prosesleri fotofiziksel olup, c prosesi ise fotokimyasal bir prosesdir. Şekildeki (R_0), temel haldeki molekülü, (R^*) uyarılmış haldeki molekülü, (P_1) ise uyarılma sonucu oluşan herhangi bir ürünü temsil etmektedir.

Yukarıdaki şekilde verilen a ve b prosesleri daha önce detaylı bir şekilde açıklanan floresans ve iç dönüşüm olaylarını temsil etmektedir. Diğer basamakta (c) ise temel haldeki bir molekül (R_0) $h\nu$ enerjisiyle uyarıldıktan sonra R^* uyarılmış hal oluşur ve molekül bundan sonra P_1 gibi farklı bir ürüne dönüşmektedir.

Bimoleküler etkileşmeler dikkate alınacak olursa, ortamda R^* ’ın haricinde onunla etkileşen bir Q molekülünün olduğu kabul edilir. Genel olarak bimoleküler prosesler temsili olarak Şekil 1.5’de verilmiştir.



Şekil 1.5. Bimoleküler deaktivasyon prosesleri

Şekil 1.5’de verilen a, b ve c bimoleküler deaktivasyon prosesleri sırasıyla açıklanacak olursa:

a- Uyarılmış hali oluşan bir molekül R^* , ortamda temel halde bulunan Q molekülüyle etkileşerek bir ürüne dönüşmektedir (P_1 gibi). Bu etkileşim sonucunda tek bir ürün olabileceği gibi $P_1+P_2 \dots$ gibi birden fazla ürün de oluşabilir.

b- Uyarılmış haldeki R^* molekülü, ortamda bulunan Q molekülüne elektron vererek R^+ ve Q^- hallerinin oluşmasına sebep olabilir.

c- Elektronik uyarılmış hali oluşan molekül (R^*) belli bir enerjiye sahiptir. Bu molekül eğer ortamda başka bir molekül varsa enerjisini o moleküle transfer ederek enerji yükünü azaltır ve kendi ışımasız olarak temel hale geçerken, Q molekülünün uyarılmasına neden olur. Bu proseste transfer olan enerjinin ışımaya şeklinde gözlenmesi mümkün değildir. Bu proseste olduğu gibi, uyarılma enerjisinin bir başka moleküle transfer ederek molekülün ışımasız bir şekilde temel hale geçme olayına kuençleşme (“söndürme” (Quenching)) olayı veya sensitizasyon olayı denir. Buna neden olan moleküle ise “söndürücü” (Quencher) veya sensitizer adı verilir. Ayrıca R^* molekülünün elektronik uyarılma enerjisini Q molekülüne aktarması olayı enerji transferi olarak da tanımlanabilir.

Kuençleşme olayı bimoleküler bir proses olduğundan uyarılmış haldeki R^* molekülüyle Q molekülünün birbirleriyle etkileşimi önemlidir. R^* molekülü ile Q molekülü arasında çarpışmalar olabileceği gibi bu iki molekülün etkileşimi sonucu kompleks de oluşabilir (Lakowicz 1983).

Kuençleşme, ilk olarak biyokimyasal proseslerde 1960’lı yılların sonlarında uygulanmaya başlanılmıştır. Kuençleşme olayları miktarı az olan, bozulmayan, katkılı veya katkısız floresans problemleri içeren numunelerde kolaylıkla gerçekleşebilir ve bu reaksiyonlardan ilgili sistem için son derece önemli bilgiler elde edilebilir. Örneğin; kuençleşme reaksiyonlarında oksijen (O_2), akridin gibi kuenç ediciler kullanılarak makromoleküllerin yapısındaki floresans gruplarının yerleri hakkında bilgi elde edilebilir. Kuençleşme reaksiyonları, değişik şartların neden olduğu yapı değişiminde veya tomografik bir makromolekülün özelliklerini belirlemede kullanılabilir (Lakowicz 2002).

Bu tez çalışmasındaki amaç, donör-akseptör molekülleri arasındaki floresans enerji transferinin incelenmesi ve Förster kinetiğine göre tartışılmasıdır. Ayrıca enerji transferi Stern-Volmer denklemiyle de tartışılacaktır.

Bimoleküler kuençleşme olayında iki molekül arasındaki etkileşim temel esastır. Bu moleküller arasında difüzyon sonucu çarpışmalar ve bu çarpışmalar sonucunda moleküller arasında bir foton absorpsiyonu meydana geliyorsa, moleküllerden biri uyarılmış hale geçerken diğer molekül ise temel hale ışımsız bir şekilde döner. Bu tür prosesler dinamik kuençleşme olarak adlandırılmaktadır.

Florofor ile kuenç edicinin etkileşmesinden sonra floresans özelliği olmayan bir kompleks meydana geliyorsa, bu şekilde meydana gelen kuençleşme olayına ise statik kuençleşme denilmektedir.

Dinamik kuençleşme için Stern-Volmer denklemi aşağıdaki gibi ifade edilmektedir.

$$I_o / I = 1 + K_{sv}[Q] \quad 1.1$$

Bu denklemde I_o , ortamda kuenç edicinin bulunmadığı andaki, I ise ortamda kuenç edicinin bulunduğu andaki floresans şiddeti ve $[Q]$ ise kuençir konsantrasyonudur. $K_{sv}=k_q \cdot \tau_o$ olup, Stern-Volmer sabitini temsil etmektedir. k_q bimoleküler kuençleşme hız sabiti, τ_o kuençirin ortamda olmadığı andaki floresans ömrüdür (Lakowicz 1983).

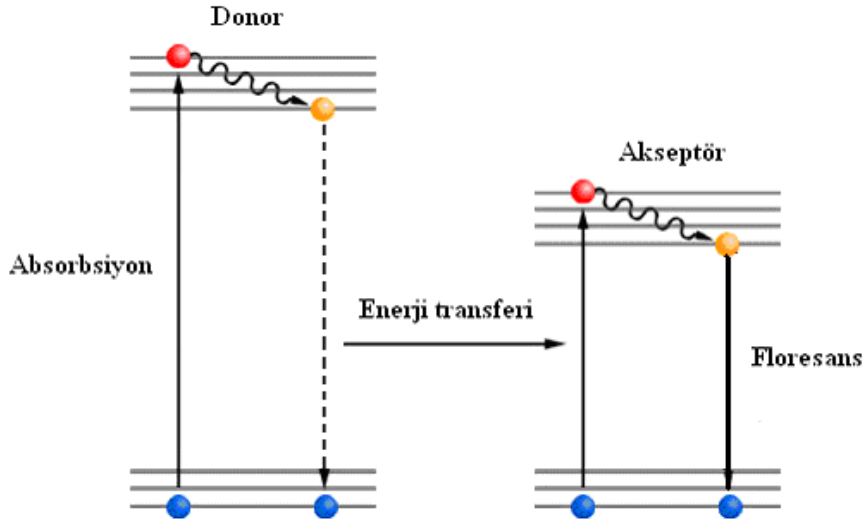
Statik kuençleşmede ise Stern-Volmer denklemi

$$I_o / I = (1 + K_{sv}[Q])(K_a[Q]) \quad 1.2$$

şeklindedir. Burada K_a kompleks oluşma sabitidir (Lakowicz 2002).

Ayrıca Stern-Volmer denklemi enerji transfer etkinliği hakkında bilgi vermektedir. Bu aşamada çalışmanın konusunu oluşturan floresans enerji transferinin tanımlanması

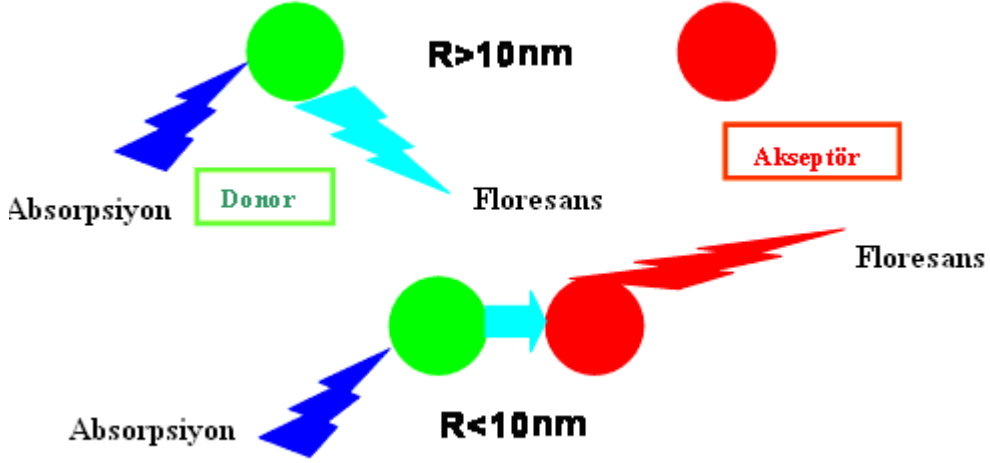
gerekmektedir. Enerji transferinin gerçekleşebilmesi için donör olarak adlandırılan enerji verici molekül ile akseptör olarak adlandırılan enerji alıcı molekülün olması gereklidir. Bu moleküller aynı veya farklı olabilirler. Floresans enerji transferi, uyarılmış haldeki donör molekülünden (D) kimyasal özelliği farklı akseptör molekülüne (A) uyarılmış durumdaki hal enerjisinin transferidir. Bu enerji transferi ışımsız bir şekilde gerçekleşmektedir. Bu durum donör-akseptör çiftinin dipol-dipol etkileşiminin bir sonucudur. Genel bir floresans enerji transfer olayı Şekil 1.6’da şematik olarak gösterilmiştir (Toprak 2006).



Şekil 1.6. Floresans enerji transfer prosesinin temsili gösterimi

Floresans enerji transferinin oranı, akseptörün absorpsiyon spektrumu ile donörün emisyon spektrumunun örtüşükleri kısmın büyüklüğüne, donör ve akseptörün dipol geçişlerinin kısmi oranına ve donör-akseptör molekülleri arasındaki uzaklığa bağlıdır.

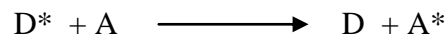
Etkin bir enerji transferinin olabilmesi için moleküllerin birbirleriyle etkileşmesi gerekmektedir. Bu yüzden donör ve akseptör arası mesafe oldukça önemlidir. Enerji transferinin olabilmesi için donör ile akseptör arasındaki mesafe genel olarak 10 nm’den daha küçük olması gerekmektedir. Bu durum temsili olarak Şekil 1.7’de verilmiştir (Toprak 2006).



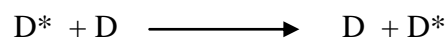
Şekil 1.7. Floresans enerji transferinde donör ve akseptör arasındaki mesafenin önemini gösteren şekil.

Şekil 1.7’de gösterildiği gibi donör ile akseptör arasındaki mesafe 10 nm’den büyük olduğu zaman donörün absorpsiyonunun yanında emisyonu da görülmektedir. Çünkü mesafeye bağlı olarak donör-akseptör arasında herhangi bir enerji transferi söz konusu değildir. Ancak bu mesafe 10 nm’den daha az olduğu zaman enerji transferi meydana gelmekte olup, donör molekülü absorpladığı enerjiyi akseptör molekülüne aktararak akseptörün emisyon yapmasına neden olmaktadır.

Donör-akseptör arası enerji transferi,

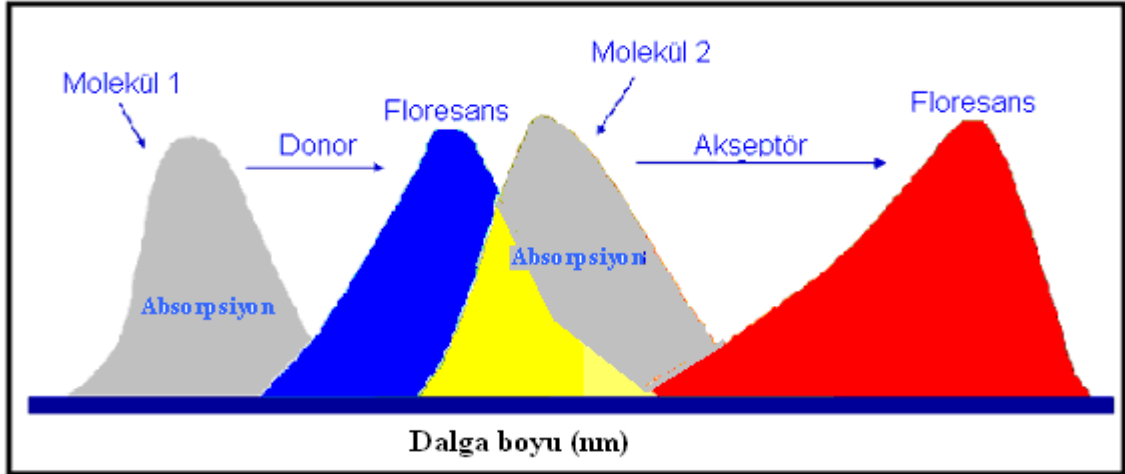


şeklindeki bir mekanizmayla ifade edilebilir. Bu mekanizmaya göre gerçekleşen enerji transferi heterotransfer olarak adlandırılır. Eğer donör ve akseptör aynı ise;



homotransfer olarak tanımlanır.

Enerji transferinin gerçekleşebilmesi için daha önceden belirtilen bir diğer önemli parametre, donörün emisyon spektrumu ile akseptörün absorpsiyon spektrumunun kısmen örtüşmesi durumudur. Literatürde overlap bölgesi (örtüşme alanı) olarak bilinen bu durum Şekil 1.8’de temsili olarak gösterilmiştir (Toprak2006).



Şekil 1.8. Donör ve akseptör moleküllerinin spektral örtüşmesi

Şekil 1.8’de donör olan molekül 1 ve akseptör olan molekül 2’nin absorpsiyon ve emisyon (floresans) spektrumları verilmiştir. Görüldüğü gibi donörün emisyon spektrumu ile akseptörün absorpsiyon spektrumu kısmen örtüşmektedir. Örtüşmenin büyüklüğü spektrumdaki örtüşen kısmın alanıyla orantılıdır (Lakowicz 1983). Akseptörün absorpsiyon spektrumu ile donörün emisyon spektrumunun örtüştükleri alanın büyüklüğü iki molekül arasındaki enerji transferini etkileyecektir. Bahsedilen enerji transferi, türlerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak etkilenir. Ortama eklenen akseptör konsantrasyonunun artırılması donörün emisyonunu azaltırken akseptörün absorpsiyonunun artmasına neden olur. Bu durum aynı zamanda donörün kuantum veriminde (Q_D) bir düşüş, akseptör kuantum veriminde (Q_A) ise bir artış demektir.

Enerji transferi oranının donör-akseptör arasındaki uzaklığa bağlılığından dolayı, bu uzaklığın ölçülmesi enerji transfer proseslerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Floresans enerji transferinin bağlı olduğu tüm faktörler gelecekteki biyokimyasal

araştırmalardaki enerji transferi uygulamaları için bir potansiyele sahip olduğundan oldukça önemlidir.

Enerji transfer olaylarında gerçekleşen enerji aktarımının belirlenmesinde Förster eşitliğinden yararlanır. Kısaca enerji transferinde donör-akseptör arasında gerçekleşen enerji aktarımı Förster eşitliğine uygunluk gösterir.

$$R_0^6 = 8,875 \cdot 10^{-25} \cdot \kappa^2 \cdot n^{-4} Q_d J \text{ (cm)} \quad 1.3$$

Bu denklemde;

R_0 : Förster uzaklığı (Karakteristik uzaklığı)

κ^2 : Donör ve akseptörün dipol geçişlerinin birbirine göre yönlenmesi (2/3 alınır)

n : Çözücünün kırılma indisi

Q_d : Donör kuantum verimi

J : Normalize edilmiş absorpsiyon ve emisyon spektrumların çakışma integrali

D moleküllerinden A moleküllerine uyarılma enerjisinin transfer hızı,

$$k_T = \frac{1}{\tau_D} \left(\frac{R_0}{r} \right)^6 \quad 1.4$$

denklemiyle verilir. Bu denklemde;

τ_D : Akseptörün olmadığı durumda donörün uyarılmış haldeki yaşam ömrü

r : Donör akseptör çifti arasındaki uzaklığı

R_0 : Förster uzaklığı (Karakteristik uzaklığı) ifade etmektedir.

Formülde yer alan Förster mesafesi enerji transferinin %50'sinin meydana geldiği anda donör ve akseptör arasındaki mesafe olarak tanımlanmaktadır.

Bir donör ve akseptörün sabit bir uzaklık olan r ile ayrıldığı düşünelim. Donörden akseptöre olan enerji transferinin hızı,

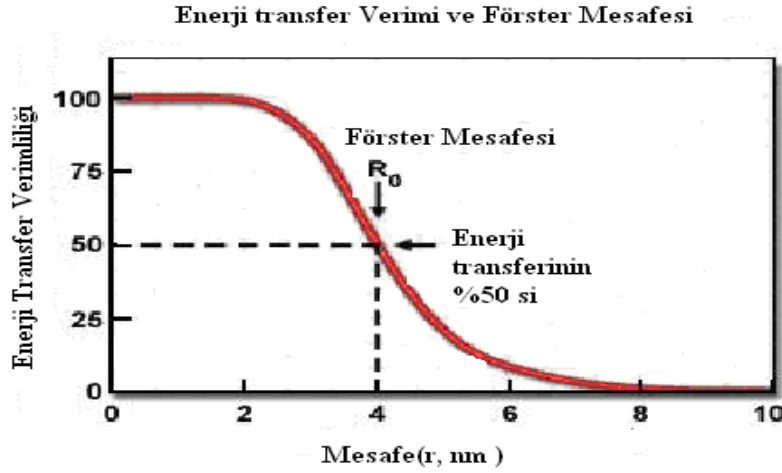
$$k_T = \frac{9000(\ln 10)\kappa^2 \phi_D}{128\pi^5 n^4 N r^6 \tau_D} \int_0^\infty \frac{F_D(\bar{\nu}) \varepsilon_A(\bar{\nu})}{\bar{\nu}^4} d\bar{\nu} \quad 1.5$$

$$k_T = (r^{-6} J \kappa^2 n^{-4} \lambda_D) \times 8,71 \times 10^{23} \text{ s}^{-1} \quad 1.6$$

formülleriyle incelenebilir. Denklem 1.5'deki, integral, donör ile akseptör arasındaki örtüşme kısmının alanını ifade etmekte olup, denklem 1.6'da J sembolü ile verilmektedir. Bu formüllerde ϕ_D , ortamda akseptörün bulunmadığı andaki donörün kuantum verimini; N, Avogadro sayısını; r, donör ile akseptör arasındaki uzaklığı; τ_D , ortamda akseptör bulunmadığı durumda donörün floresans ömrünü, n, ortamın kırılma indisini; κ^2 , donör ve akseptörün geçiş dipollerinin boşlukdaki göreceli yönelmesini ifade eden bir faktör olup genelde 2/3 olarak alınır; $\varepsilon_A(\bar{\nu})$, $\bar{\nu}$ deki akseptörün molar absorpsiyon katsayısını; $F_D(\bar{\nu})$, donörün $\bar{\nu}$ den $\bar{\nu} + d\bar{\nu}$ ye olan dalga sayısı aralığında düzeltilmiş floresans şiddeti olup aynı zamanda normalize edilmiştir. λ_D ise donörün emisyon hızı olup $\lambda_D = \phi_D / \tau_D$ oranını ifade etmektedir. J, donörün emisyon ve akseptörün absorpsiyon spektrumlarının çakışma derecesini gösteren örtüşme integrali olup, birimi $M^{-1} \text{ cm}^3$ 'dür. Floresans enerji transfer olaylarında kullanılan bir diğer önemli parametre Förster mesafesidir ve aşağıdaki eşitlikle belirlenir.

$$R_0 = 9,79 \times 10^3 [\kappa^2 n^{-4} \phi_D J]^{1/6} \quad (\text{Å}) \quad 1.7$$

Bu denklemdeki her bir parametre denklem 1.5'de belirtilen parametreler ile aynıdır. Förster mesafesinin grafik yoluyla temsili gösterimi Şekil 1.9'da verilmiştir (Toprak 2006).



Şekil 1.9. Förster mesafesini gösteren temsili grafik.

Stern-Volmer denklemi esas alınarak enerji transfer hız sabiti belirlenebilir. Buna göre denklem 1.1

$$\frac{I_o}{I} = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + k_T \tau [Q] \quad 1.8$$

olacak şekilde düzenlenebilir (Sujan 2005; El-Daly 1999).

Enerji transfer olaylarında önemli parametrelerden biri de enerji transfer verimliliğidir (E). Bu da akseptöre transfer olan donör tarafından absorplanan fotonların oranıdır (Lakowicz 1983). Enerji transfer verimliliği enerji transfer hız sabitinin toplam deaktivasyon prosesleri hız sabitlerinin toplamının oranına eşittir (Lakowicz 2002).

$$E = \frac{k_T}{k_T + k_f + k'} \quad 1.9$$

Bu denklemde; k_f , floresans durulma hız sabiti; k' , ise diğer tüm deaktivasyon proseslerinin hız sabitini temsil etmektedir. Enerji transfer verimliliği floresans

şiddetinden veya floresans ömürlerinden faydalanarak hesaplanabilir. Bu denklemler aşağıdaki gibidir.

$$E = 1 - \frac{\tau_{DA}}{\tau_D} \quad 1.10$$

veya

$$E = 1 - \frac{I_{DA}}{I_D} \quad 1.11$$

Bu denklemlerde; I_D , ortamda akseptör olmadığı durumdaki donörün floresans şiddeti; I_{DA} , ortamda akseptör olduğu durumdaki donörün floresans şiddetidir. τ_D ve τ_{DA} ise sırasıyla ortamda akseptör olmadığı ve akseptör olduğu andaki floresans yaşam ömrüdür (Lakowicz 2002). Donör ve akseptör arasındaki r mesafesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanabilir.

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad 1.12$$

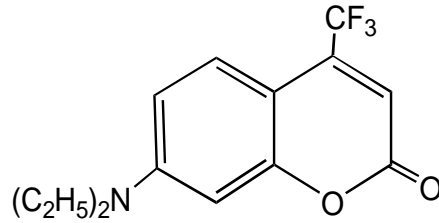
Burada R_0 , Förster mesafesi; r , donör ve akseptör arasında enerji transferinin olduğu mesafe ve E ise enerji transfer verimliliğidir.

Son yıllarda artarak devam eden enerji transfer çalışmaları farklı amaçlı enerji dönüştürme proseslerinde, dye lazerlerde belli dalga boyunda en iyi cevabı verecek dye karışımların belirlenmesinde (De and Girigoswami 2004), özellikle biyokimya alanında oldukça hız kazanmıştır (Stryer 1978, Steinberg 1971). Enerji transfer prosesleri, fotokimyasal sentezler, dye lazerlerinin enerjilerini değiştirmede, biyolojik molekül ve floroforlar arasında spesifik birleşme prosesleri için gerekli biosensörlerin geliştirilmesinde (Pampa 2003), biyolojik makromoleküllerin yapılarında, moleküler dağılmada veya mikro heterojen sistemlerin kimyasal birleşmelerinde, biyomoleküllerin yapı ve fonksiyonları hakkında bilgi edinmede, canlı organizmaların biyolojik aktivitelerinde gerekli fosfolipitlerde, proteinlerin yarıçaplarını tahmin etmede,

biyolojik mebran kalınlığı hesaplamada, proteinlerdeki kromoforik gruplar arasındaki mesafelerin belirlenmesi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Hong 2000; Shin-Ichi 2000; Guy 1995; Sanchez 1996; Kalyanasundaram 1987; Baptista and Inding 1998; Hueder 2003).

Bu tez çalışmasında, fotofiziksel özellikleri iyi bilinen kumarin 35 (Das 2005) ve pyronin dye bileşiklerinin (Pyronin B ve Pyronin Y), sodyum dodesil sülfat (SDS), hekzadesiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ve triton x-100 (TX-100) misellerini içeren ortamlarda floresans enerji transfer olayı için uygun molekül çiftleri oluşturup oluşturamayacakları, enerji transfer gerçekleşme şartları dikkate alınarak incelenmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla tez çalışmasında kullanılacak materyallerin genel özelliklerinden bahsetmek yararlı olacaktır.

Çalışmada, donör molekülü olarak kullanılan kumarin 35 (C35) molekülünün yapısı Şekil 1.10'da verilmiştir.

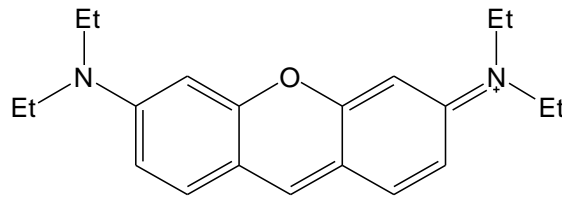


Şekil 1.10. Kumarin 35'in moleküler yapısı

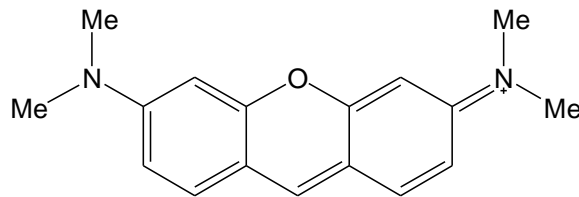
Kumarin türevi dye bileşikleri bilim ve teknolojinin farklı alanlarında kullanılan organik moleküllerdir. Elektronik uyarılma sonucu amino gruplarından karbonil grubuna molekül içi elektron transfer edebilme yeteneğine sahip bileşiklerdir. 7-aminokumarin türevlerinin mavi-yeşil bölgede spektral emisyon özelliği vardır. Dye lazerlerin dalgaboyunu ayarlama, sentetik ipliklerin boyanmasında, non-lineer optik materyallerde, kumarinli polimerlerde, sürekli dalga modülasyonu için elektrooptik materyallerde, diyot lazerlerin frekanslarını artırmada ve fotorefraktif materyallerde,

kromatografide, protein çalışmalarında, ilaç türevlerinin antikoagulantlarında, biyolojik alanda, polimerler ve farmakolojide yaygın bir şekilde kullanılır. Kumarin türevlerinin uygulama alanının çokluğu, antrasen ve pyren moleküllerinin aromatik halka sistemlerinden farklı bir halka yapılarına sahip olduklarından dolayı farklı absorpsiyon ve emisyon özelliklerine sahip olmalarından ileri gelmektedir (Kozyra 2002; Christie and Lui 1999; Nenkowich *et al.* 1997; Das 2005).

Akseptör olarak kullanılan pyronin B (PyB) ve pyronin Y (PyY) dye bileşikleri ksanten türevi bileşiklerdir. Heterosiklik yapıda olup, temel halde π -orbitalleri içeren organik bileşiklerdir. Dye lazerlerde elektromanyetik ışımının dalgaboyunu ayarlama da kullanılan floresans özelliğe sahiptirler. Bu tür bileşikler kağıt, tekstil vb. sanayi alanlarında boyar madde olarak kullanılmaktadır (Arık 2003; Rohatgi 1978; Daintith 2000). Pyronin bileşiklerinin kimyasal yapısı Şekil 1.11’de verilmiştir.



Pyronin B

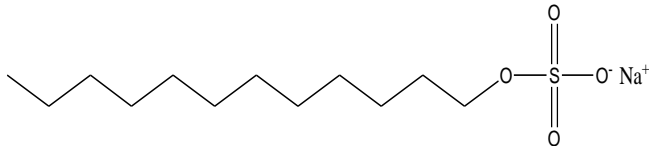


Pyronin Y

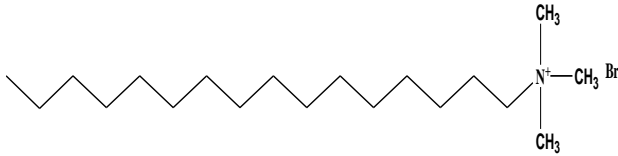
Şekil 1.11. Pyronin B ve Pyronin Y bileşiklerinin moleküler yapıları

Bu tez çalışmasında kullanılan bir diğer materyal olan surfaktantlar polar ve apolar kısımlara sahip yüzey aktif maddelerdir. Surfaktantların polar kısmı anyonik, katyonik veya yüksüz olabilirler. Yüksek miktarda yüzey aktif madde içeren çözeltiler alışılmışın

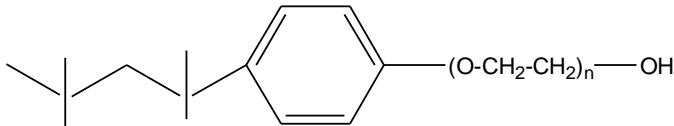
dışında bazı değişik fiziksel özellik gösterebilirler. Seyreltik çözeltide normal bir çözünen gibi davranan surfaktantların belli bir konsantrasyonda su içerisinde hidrofobik kısımların içe hidrofilik kısımların sulu ortamla temasta olacak şekilde yönelmesiyle yaklaşık 10-100 adet surfaktant molekülünden oluştuğu tahmin edilen ve misel olarak adlandırılan agregat yapılarının meydana gelmesinden kaynaklanan fiziksel bir değişim gözlenmektedir. Fiziksel özelliklerindeki değişimlerin meydana geldiği surfaktant konsantrasyonuna “kritik misel konsantrasyonu” (CMC) denir. Dye-surfaktant sistemlerin en belirgin özelliği zıt yüklü surfaktantların varlığında elektrostatik etkileşimler sonucu dye bileşiklerinin hem absorpsiyon hem de floresans özelliklerinde önemli değişimlerin olmasıdır (Behere *et al.* 1999). Çalışmalarda kullanılan pozitif, negatif ve nötral surfaktantların kimyasal yapısı Şekil 1.12-14’de sırasıyla verilmiştir.



Şekil 1.12. Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)’in kimyasal yapısı



Şekil 1.13. Hekzadesiltrimetilamonyum bromür (CTAB)’ün kimyasal yapısı



Şekil 1.14. Triton X-100 (TX-100)’ün kimyasal yapısı

2.KAYNAK ÖZETLERİ

Biyolojik etiketleyici olarak yaygın bir şekilde kullanılan boyar maddeler (dye bileşikleri), düzenli sistemlerde floresans rezonans enerji transferi için kullanılmıştır. Saf su içinde boyar madde çiftleri olan floresin (donor)-nil kırmızısı (akseptör) ve akridin orange (AO) (donor)-nil kırmızısı (akseptör) çiftleri arasında enerji transferi meydana gelme ihtimali oldukça düşüktür. Floresans rezonans enerji transfer prosesi, düzenlenmiş surfaktant sistemlerinde, örneğin Triton X-100'ün misel ve ters misel sistemlerinde enerji transferi oranı konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak artmıştır. Enerji transfer prosesleri için ters misellerin, misellerden daha iyi bir ortam olduğu belirlenmiştir. Hatta enerji transfer çalışmaları, değişik misel sistemlerde donor ve akseptör boyar maddelerinin tahmini dağılımı hakkında bir bilgi sağlaması açısından önemlidir. Boyar madde dağılımı için poissonian dağılım istatistikleri, miseller ve ters miseller içinde donor-akseptör arası uzaklık, enerji transfer değerlerine göre belirlenmektedir (De and Girigoswami 2004).

Kumarin türevleri ve akridin orange (AO) arasındaki enerji transferi iki farklı viskoz çözücü içinde çalışılmıştır. Metanol ve gliserol çözücülerinde donor-akseptör çiftlerinin değişik konsantrasyon değerleri floresans rezonans enerji transferi için önemli bir farklılık göstermektedir. Örtüşen bölge değerleri (overlap bölgesi) 7-amino kumarin donor molekülünün, alkali grup substitüentlerinin zincir uzunluğunun artmasıyla artmıştır. Bu da kuantum verimi ve floresans ömürlerinin artması anlamına gelmektedir. Bunun sebebi moleküldeki elektronik geçişlerin artmasıyla substitüe grubun potansiyelinin değişmesine sebep olmasıyla açıklanılmıştır (Kozyra *et al.* 2002).

3 ve 7-dietilamino-4-metil kumarin (Kumarin1) gruplarının büyüklüğüne göre karakteristik elektronik enerji transferi ve buna bağlı olarak fotofiziksel özellikleri polimer ve bazı çözelti ortamlarında incelenmiştir. Değişen elektron sağlayıcı gruplar, fenil, feniltiol ve benzerleri 3 pozisyonunda difüzyon kontrollü olarak statik kuençleşmeden daha büyük oranda metanol ortamında kuençleşme göstermiştir. Artan çözelti polaritelerinde elektron transferine izin veren prosesler, floresans yaparak etkin

bir şekilde yarışmalı olarak moleküller arası elektron transferini tercih ettiği rapor edilmiştir. Enerji transfer hızı ve Förster mesafesi deneysel ve teorik olarak kumarin (donor) türevleri ve N-oksil (akseptör) radikallerinde incelenmiştir. Seçilen çiftler paramanyetik grupları fazla olan, metanol, heptadien, sikloheksan ve benzeri çözücülerde incelenmiştir (Kaholek and Hrdlovic 1999).

DSP (2,5-Distytyl pyrazine) ve P2VB (1,4-bis (β -pyridyl-2vinyl) benzen) lazer boyaları durağan hal floresans ölçümler yoluyla rhodamine 110 (R110) lazer boyasına metanol ve bütanol ortamında enerji transferi prosesleri incelenmiştir. Stern-Volmer grafiklerinden enerji transferi hız sabitleri (k_{ET}), metanol ve bütanolde DSP-R110 çifti için $9,8 \times 10^{12}$ ve $13,4 \times 10^{12} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ ve P2VB-R110 çifti için $2,17 \times 10^{13}$ ve $2,3 \times 10^{13} \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ s}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Förster uzaklığı (R_0) aynı çözücülerde Förster denklemi kullanılarak akseptörün absorpsiyon spektrumu ve donörün emisyonundan sırasıyla P2VB-R110 çifti için 41,4 ve 41 Å, DSP-R110 çifti için 55,5 ve 52,7 Å olarak belirlenmiştir. k_{ET} ve R_0 'ın değerleri enerji transferinden sorumlu baskın mekanizmanın temel olarak akseptör ve uyarılmış donör arasındaki uzun mesafe dipol-dipol etkileşiminden kaynaklandığı belirtilmiştir (Azim *et al.* 2000).

Hekzadesiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ortamında, perilen ve floresin arasında enerji transfer çalışması incelenmiştir. Kuençleşme deneyinden elde edilen sonuçlar CTAB miselinde perilen ve floresin ikilisi için değişmeyen bir çalışma mekanizması olduğunu göstermiştir. Enerji transfer verimliliği üzerine akseptör konsantrasyonunun etkisiyle ilgili yapılan çalışmalar, sadece misel içi enerji transferinin bütün enerji transfer olaylarında etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca CTAB miseline 0,01 M NaOH ilavesinin kritik misel konsantrasyonu (CMC) değerine ve miselin agregasyon sayısına etkisi, enerji transfer sonuçları esas alınarak araştırılmıştır. Agregasyon sayısı ve CMC parametrelerinin NaOH yokluğunda literatür değerlerine daha uygun olduğu belirlenmiştir (Sanchez and Ruiz 1996).

7-hidroksi-4 metil-8 (4'-metil-piperazin-1'y) metil kumarinin (HMMC) solvatokromik etkiye dayalı floresans davranışı, farklı çözücülerde çalışılmıştır. HMMC' nin floresansı protik ve polar karakterli çözücüler içinde yüksek bir şekilde etkilendiği bulunmuştur.

HMMC'nin bioaktif molekül olan 3-asetil-4-oxo-6,7-dihidro12H-indolo-[2,3-a]kinolozin (AODIQ) ile enerji transferi çalışılmıştır. Enerji transfer mekanizması için dipol-dipol etkileşme mesafesi tartışılmıştır. Enerji transfer verimi 0,33, R_0 mesafesi 24,9 Å bulunmuştur. Ayrıca artan polarite ile floresans maksimumunun 414 nm'den 440 nm'ye kaydığı gözlenmiştir (Mallick *et al.* 2006).

7-Amino kumarin bileşikleri donör ve rhodamine 590 (R590) akseptör olarak kullanılarak, enerji transferi misellerin tersine susuz asetonitril ve metanol'de durgun hal floresans spektroskopisi yardımıyla incelenmiştir. Förster mesafesi ve örtüşme bölgesi (J) tüm donör ve akseptörlerin hepsi için yüksek bulunmuştur. J değerleri 10^{-11} ve $10^{-12} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-3}$ bulunmuştur. Ayrıca R_0 değerleri 100 Å'dan fazla bulunmuştur. J değerlerinin yüksek olmasına rağmen enerji transfer hız sabiti düşük çıkmıştır. Enerji transfer değerlerinin farklılığı donörün yapısına bağlı olarak belirlenmiştir. Ayrıca bütün kumarinlerin absorpsiyon ve emisyon spektrumları misellerin tersine, asetonitril ve MeOH çiftleri için ($W=2-6$) W 'nin artmasıyla kırmızıya kaymıştır (Seth *et al.* 2005).

Sodyum dodesil sülfat (SDS), cetyltridesiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ve Triton X-100 (TX-100) misellerini içeren ortamlarda, floresinden merocyanine 540 (MC540)'a olan floresans rezonans enerji transferi, zamana bağlı ve zamandan bağımsız floresans spektroskopi teknikleriyle incelenmiştir. Stern-Volmer ve Förster teorisi kullanılarak elde edilen floresans rezonans enerji transferi hız sabitlerinin uyum içerisinde oldukları belirlenmiştir. Ayrıca floresans rezonans enerji transferinin gerçekleştiği en yüksek akseptör konsantrasyonunda enerji transfer verimliliği saf su, SDS, TX-100, CTAB miselleri için sırasıyla 0.14, 0.38, 0.77 ve 0.85 olarak belirlenmiştir. Zamana bağlı floresans yaşam ömür ölçümlerinden, zamandan bağımsız absorpsiyon ve floresans spektroskopi çalışmaları, floresinden MC540'a olan floresans rezonans enerji transferinin CTAB misel çözeltisinde en etkili olduğunu göstermektedir (Aydın *et al.* 2009).

Farklı kumarin boyar maddeleri ile aromatik aminler arasındaki fotonla sebep olunan elektron transfer olayları setiltrimetil amonyum bromür (CTAB) miseli içeren ortamda incelenmiştir. Çalışmalarda durgun-hal ve zamana bağımlı floresans spektroskopisi

teknikleri kullanılmıştır. Zamana bağlı anisotropi çalışmaları yardımıyla boyar maddelerin miselin neresinde yerleştiği hakkında fikir vermiştir. Ayrıca iki boyutlu elektron transfer modeli kullanılarak Marcus modeli yorumlanmıştır (Chakraborty *et al.* 2003).

DNA sarmalı içine yerleştirilen 2'-kumarin etiketli nükleosit yardımıyla floresans enerji transferi (FRET) incelenmiştir. Etkili bir FRET olayının DNA sarmalı içinde kumarin - floresin çifti arasında gerçekleştiği gözlenmiştir (Mitsui *et al.* 2000).

7-N,N-dietilamino-4-metilkumarin'in floresans şiddetinin 9-butil-4-butilamino-1,8-naftalin tarafından kuenleşmesi çeşitli çözücüler içerisinde incelenmiştir. Bu sistem için Stern-Volmer grafiklerinin lineer olmadıkları belirlenmiştir. Enerji transfer çalışmalarından donör-akseptör arası mesafenin yaklaşık 2 nm olduğu belirlenmiştir (May *et al.* 1999).

3-MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmalarda kullanılan, hegzadesiltrimetilamonyum bromür (CTAB), kumarin35 (7-(diethylamino)-4 triflorometilkumarin) (C35), sodyum dodesil sülfat (SDS), pyronin B (PyB), pyroninY (PyY), triton X-100 (TX-100) ve referans olarak kinin bisülfat SİGMA firmasından temin edildi. Metanol ve H₂SO₄ MERCK firmasından temin edildi.

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Time-Resolved

Spektroflorofotometre : PTI TM3 Time Master Spectrofluorometer

Spektroflorofotometre: Shimadzu Rf-5301 PC Spectrofluorophotometer

Spektrofotometre : Perkin Emler Lambda 2S Spectrophotometer

Deiyonize Su Arıtma

Cihazı : Elga Maxima Ultrapure Water

Otomatik Pipetler : Socorex

Refraktometre : Jena

3.3. Numunelerin Hazırlanması

Kumarin 35'in, pyronin B ve pyronin Y'nin metanol içerisinde $1,0 \times 10^{-3}$ M'lık stok çözeltileri hazırlandı. Donor olarak kullanılan kumarin 35'in konsantrasyonu denemelerde sabit tutuldu ($1,0 \times 10^{-6}$ M). Enerji transferi için akseptör olan PyY ve PyB'nin uygun konsantrasyon aralığını belirlemek için denemeler yapıldı. Konsantrasyon aralıkları her bir donör-akseptör çifti için bulundu. Referans olarak kullanılan kinin bisülfat dihidratın, 0,1 N H₂SO₄ içerisinde $1,0 \times 10^{-6}$ M'lık çözeltisi hazırlandı.

3.4 Yöntemler

3.4.1 Floresans ve absorpsiyon spektrumlarının alınması ve absorbans ölçümleri

İlk önce C35, PyB ve PyY' nin SDS, TX-100 ve CTAB ortamlarında absorpsiyon ve floresans spektrumları alındı. Aynı şekilde referans olarak kullandığımız kinin bisülfatın da 0,1N H₂SO₄ ortamında absorpsiyon ve floresans spektrumları alındı. Tüm ölçümler oda sıcaklığında yapıldı.

3.4.2 Kritik misel konsantrasyonunun belirlenmesi

C35 molekülünün SDS, CTAB ve TX-100 için kritik misel konsantrasyonları (CMC) spektroskopik teknikle tayin edilmiştir (De Paula 2004).

3.4.3 Kuantum veriminin hesaplanması

Kuantum verimleri Parker-Rees metoduyla belirlendi. Bu metoda göre kuantum verimi bilinmeyen bir bileşiğin floresans kuantum verimi referans bir bileşik yardımıyla belirlenir. Parker-Rees denklemi 3.1'de verilmiştir.

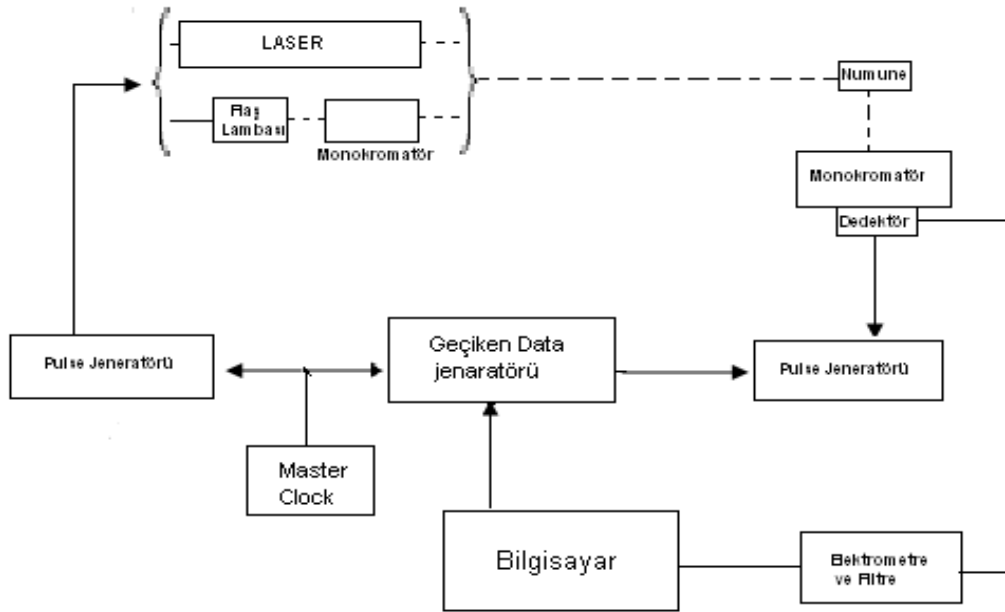
$$\phi_s = \phi_r \left(\frac{D_s}{D_r} \right) \left(\frac{n_s}{n_r} \right)^2 \left(\frac{1 - 10^{-OD_r}}{1 - 10^{-OD_s}} \right) \quad 3.1$$

Denklemde, Φ_s numunenin kuantum verimi; Φ_r , referansın kuantum verimi; D_s ve D_r sırasıyla numune ve referansın düzeltilmiş floresans spektrumu altındaki alanları; n_s ve n_r , sırasıyla numune ve referans çözücülerin kırılma indisi; OD_s ve OD_r , sırasıyla numune ve referansın uyarılma dalga boyunda ölçülen optik yoğunluktur.

Düzeltilmiş floresans spektrumlarının kullanılmasının sebebi elde edilen spektrumların diğer cihazlardan elde edilen spektrumlara tam olarak benzememesidir. Çünkü spektrumun şekli sadece floresans şiddetine değil, aynı zamanda lambanın, transduserin ve monokromatörün özelliklerine de bağlıdır. Bunları elimine etmek için düzeltilmiş floresans spektrumları kullanılır.

3.4.4 Floresans ömür ölçümleri

Floresans ömürleri stroboskopik teknikle çalışan Time Master Laser sistemiyle ölçülmüştür. Time Master Laser sisteminin çalışma prensibinin şematik olarak gösterimi Şekil 3.1’de verilmiştir.

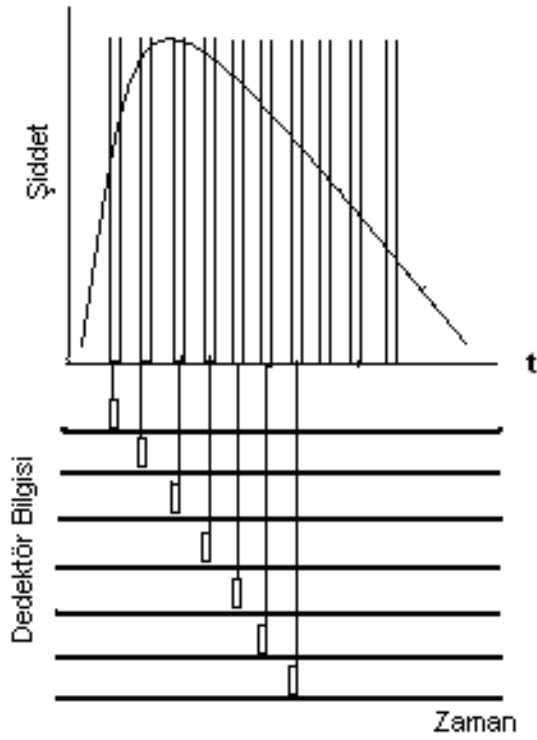


Şekil 3.1. Stroboskopik tekniğin şematik gösterimi

Stroboskopik teknikten kısaca bahsedecek olursak; ilk önce numune flaş lambası ya da lazerden gelen optik darbe (pulse) ile uyarılır. Bu sistemde bilgisayar kontrollü detektörler, darbenin numune ile etkileşmesinden sonra geçen süreyi ölçerler. Flaş ya da Lazerin eşzamanlılığı çok önemlidir ve bu işlem master saat veya zamanlayıcı

vasıtasıyla yapılmaktadır. Dedektörlerin verileri kaydetmesine hareketli pencereler yardım eder. Bu teknik pahalı elektronik malzeme gerektirmez ve yüksek şiddetli ışık kaynağına gerek yoktur. Sinyalin şiddeti direkt puls şiddetiyle orantılıdır.

Bu teknikte veriler zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Şekil 3.2’de dedektörlerin veri kaydetme işlemi temsili olarak gösterilmiştir.

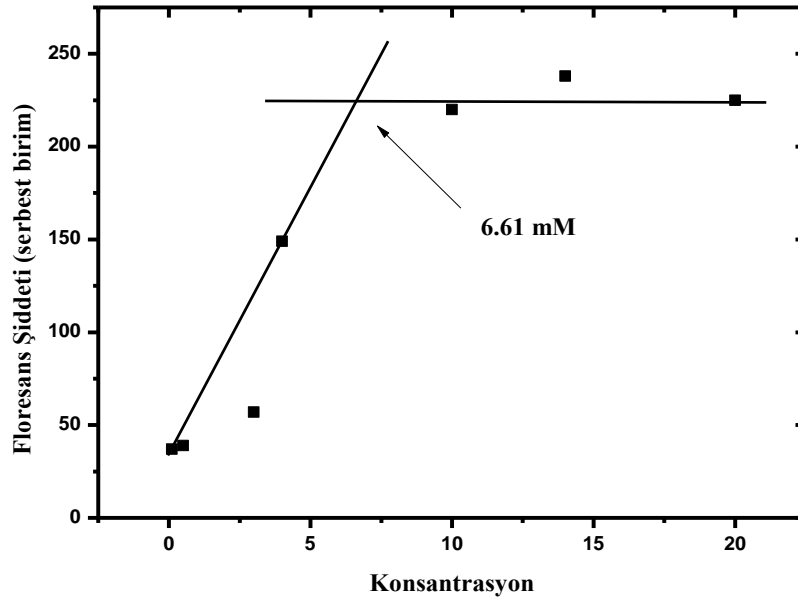


Şekil 3.2. Dedektörün veri kaydetmesinin şematik gösterimi

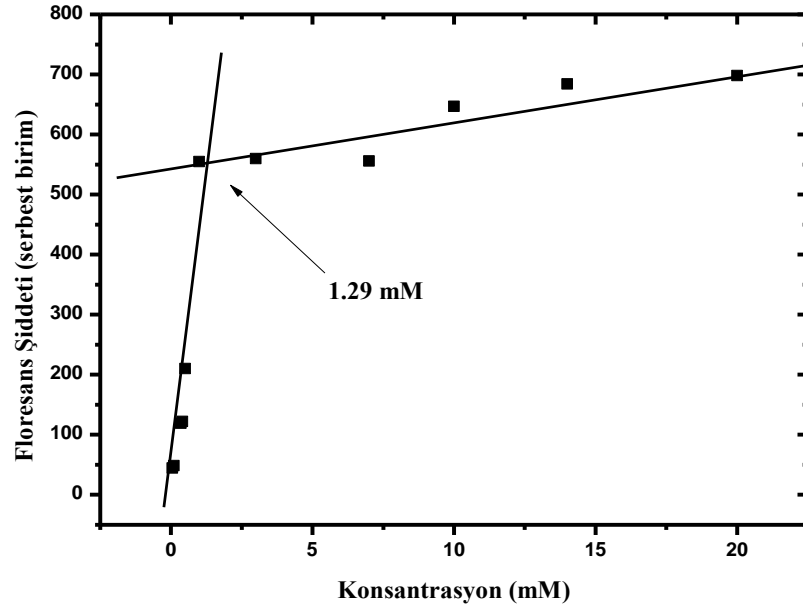
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Floresans enerji transfer çalışmalarında çözelti ortamı olarak kullanılacak olan SDS, TX-100 ve CTAB surfaktantları için kritik misel konsantrasyonlarının belirlenmesi önemlidir. Çünkü kullanılacak aktif maddelerin (dye bileşikleri) floresans özellikleri ilgili sistemin özelliğinin değişmesiyle yakından alakalıdır.

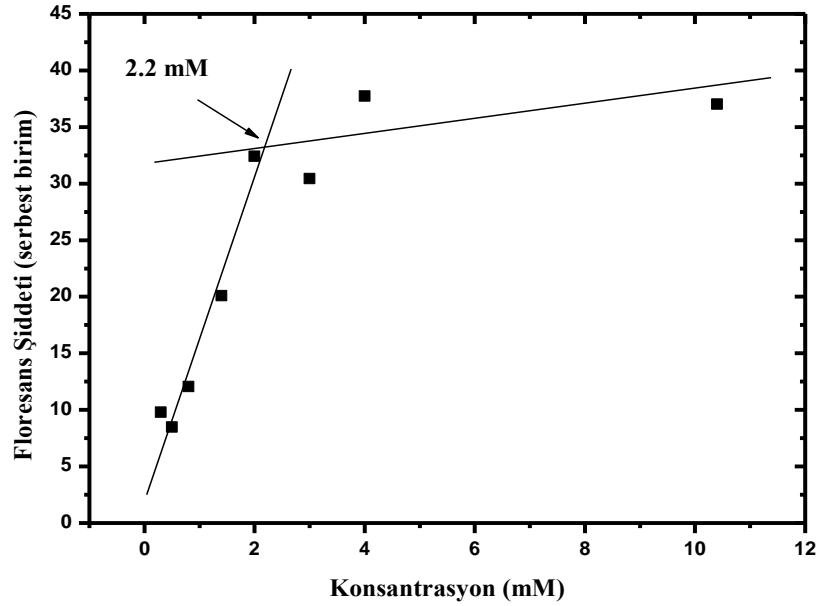
Bu tez çalışmasında donör olarak kullanılan C35 molekülünün SDS, TX-100 ve CTAB ortamlarındaki kritik misel konsantrasyonlarının belirlendiği grafikler Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.1 C35 molekülünün farklı SDS konsantrasyonlarındaki maksimum floresans şiddeti



Şekil 4.2. C35 molekülünün farklı TX-100 konsantrasyonlarındaki maksimum floresans şiddeti



Şekil 4.3 C35 molekülünün farklı CTAB konsantrasyonlarındaki maksimum floresans şiddeti

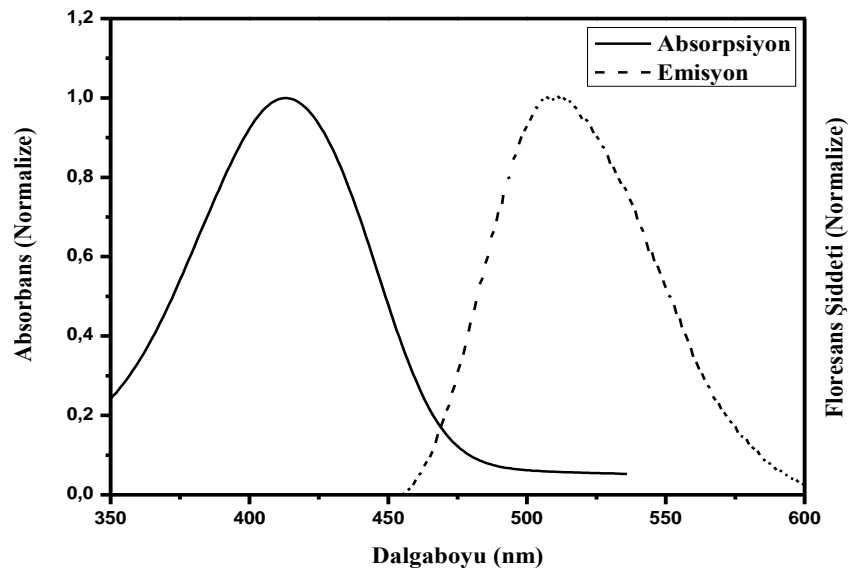
Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3’de verilen grafiklerden C35 molekülü için kritik misel konsantrasyonu (CMC) değerleri SDS, TX-100 ve CTAB ortamlarında surfaktantların grafikte belirtilen konsantrasyon değerlerinden sonra floresans özelliğinin hemen hemen değişmediği dikkate alınarak belirlenmiştir.

Bu grafiklerden elde edilen C35’in kritik misel konsantrasyon değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

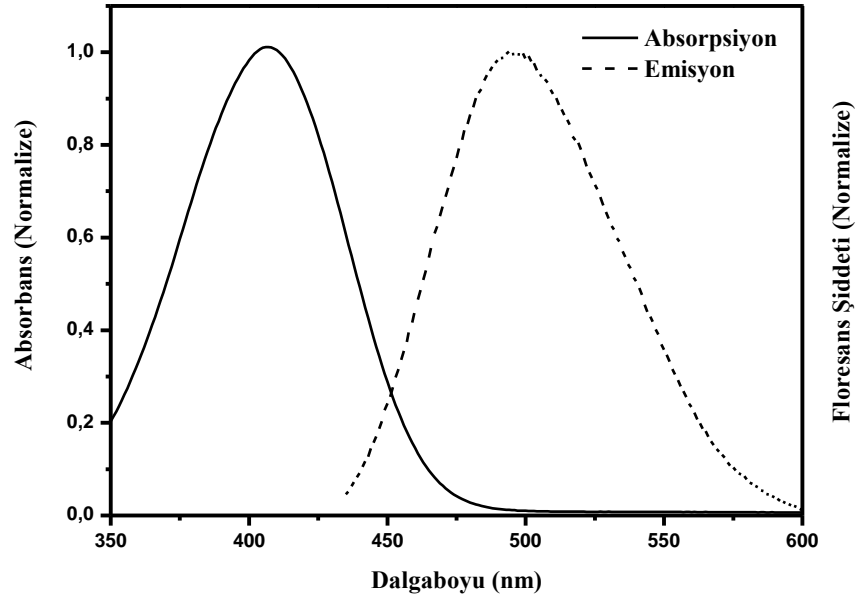
Çizelge 4.1. 25°C’de çalışılan C35 molekülü için SDS, TX-100 ve CTAB ortamındaki kritik misel konsantrasyon (CMC) değerleri

Bileşik	SDS	TX-100	CTAB
Kumarin 35	6,61 mM	1,29 mM	2,20 mM

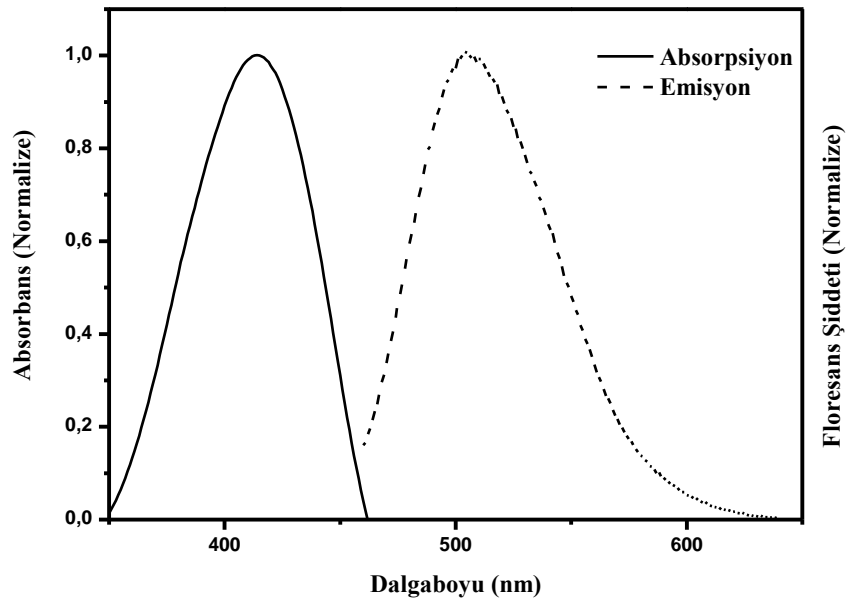
Çalışmamızda donör olarak kullanılan kumarin 35 (C35) bileşiğinin ve akseptör olarak kullanılan bileşikler, Pyronin B (PyB) ve Pyronin Y (PyY)’nin SDS, TX-100 ve CTAB ortamlarında alınmış absorpsiyon ve floresans spektrumları normalize olarak Şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12’de verilmiştir.



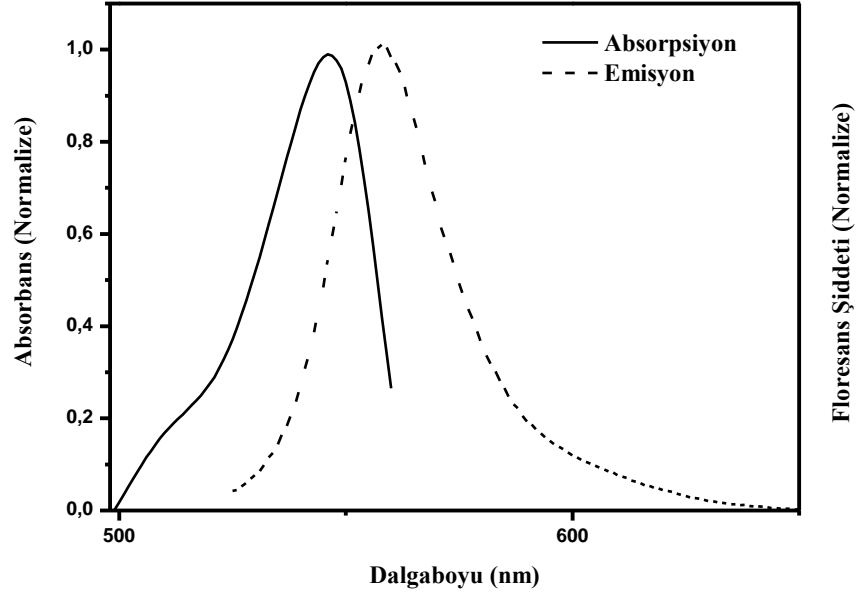
Şekil 4.4. C35’in SDS ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları



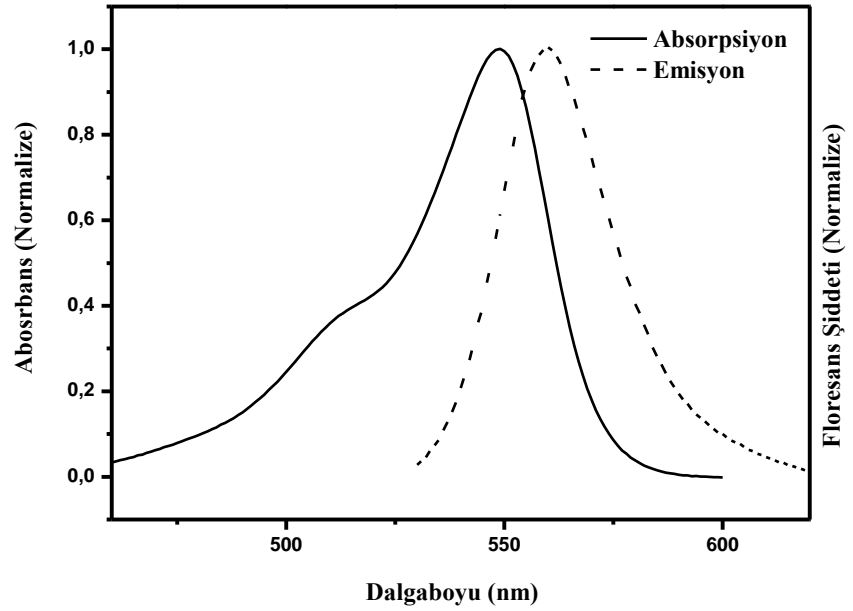
Şekil 4.5. C35'in TX-100 ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları



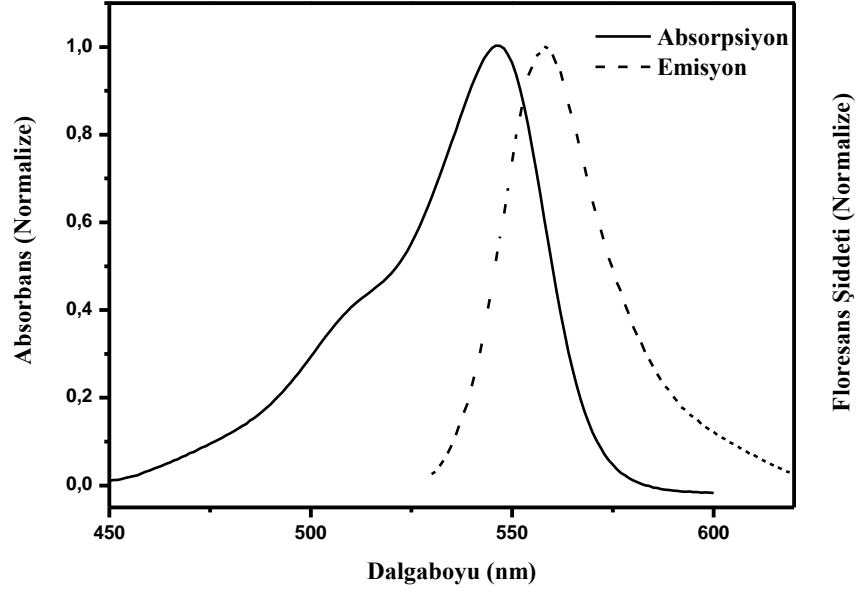
Şekil 4.6. C35'in CTAB ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları



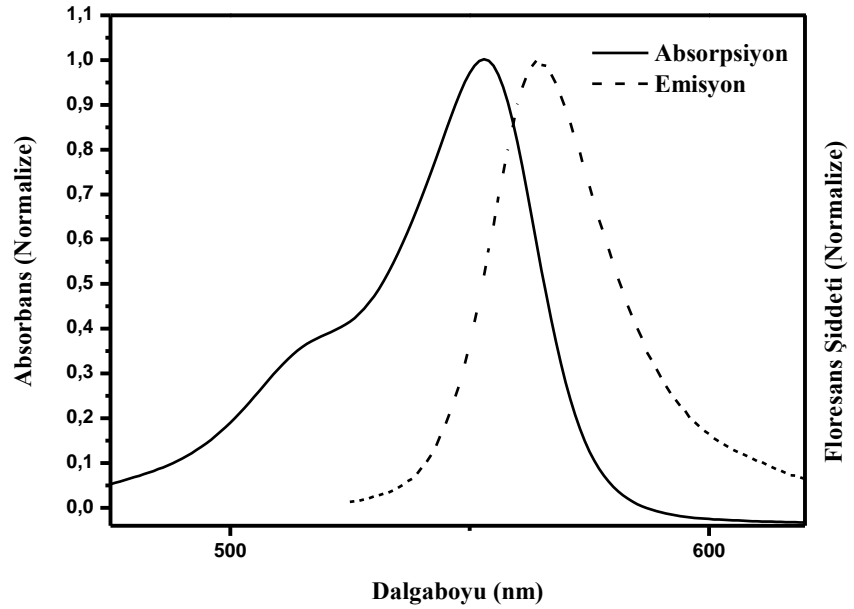
Şekil 4.7. PyY bileşiğinin CTAB ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları



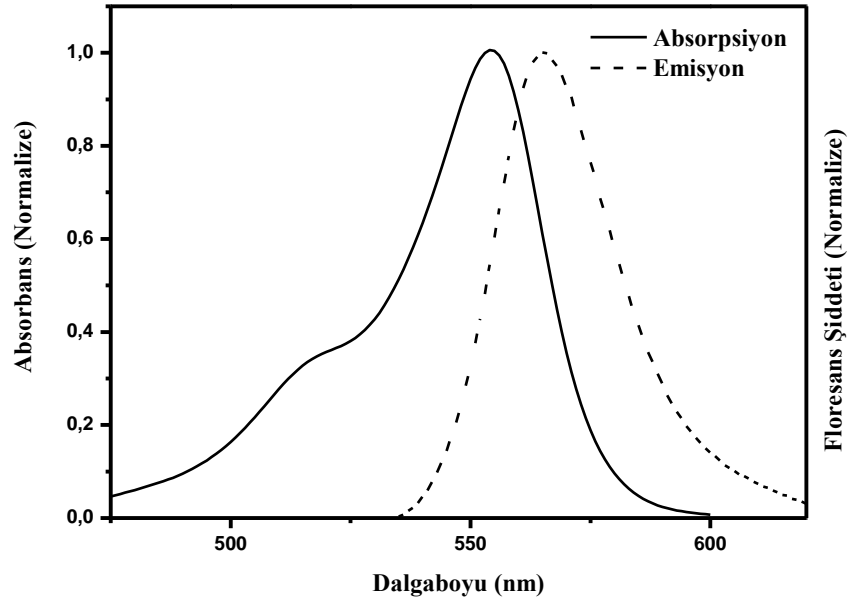
Şekil 4.8. PyY bileşiğinin SDS ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları



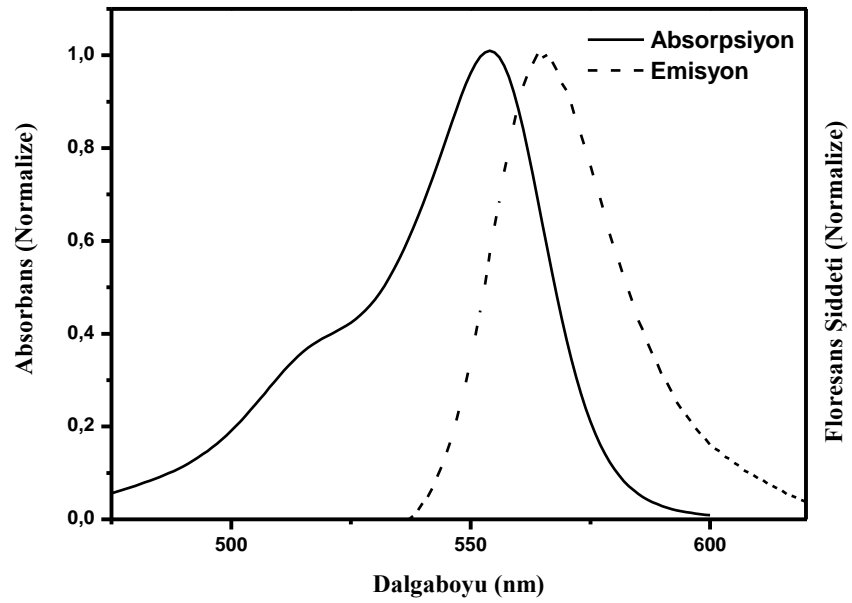
Şekil 4.9. PyY bileşiğinin TX-100 ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları



Şekil 4.10. PyB bileşiğinin CTAB ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları

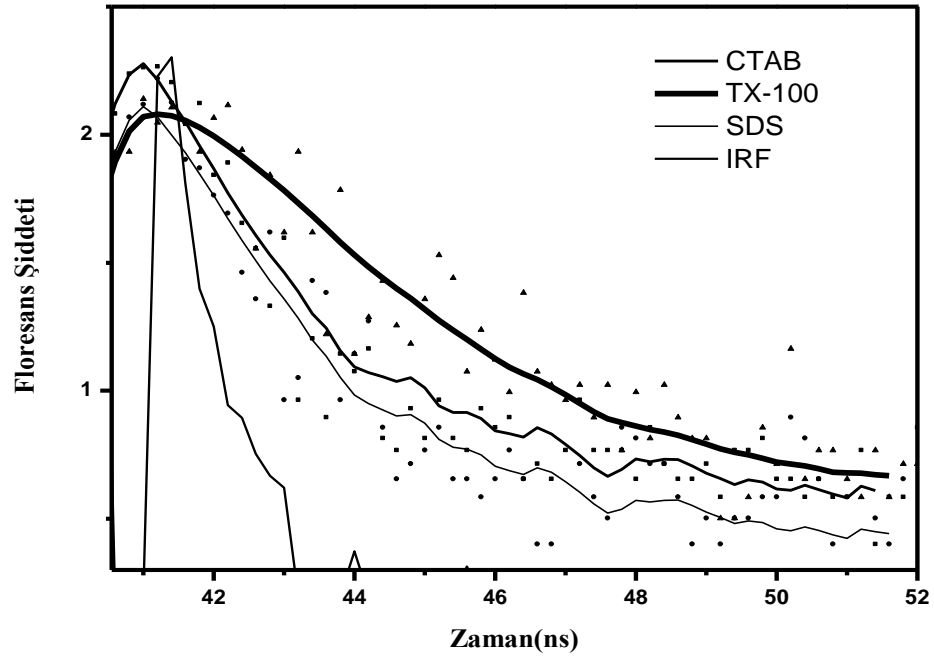


Şekil 4.11. PyB bileşiğinin SDS ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları



Şekil 4.12. PyB bileşiğinin TX-100 ortamında normalize absorpsiyon ve floresans spektrumları

C35 molekülünün SDS, TX-100 ve CTAB ortamlarındaki floresans ömürlerinin belirlenmesi için belirtilen şartlarda zamana bağlı floresans durulma (decay) spektrumları alındı. Elde edilen spektrumlar en uygun fitleri ile birlikte Şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil 4.13. C35’in CTAB, TX-100 ve SDS ortamlarında floresans durulma spektrumu (Ortalama olarak χ^2 istatistik değeri CTAB : 0,89, TX-100 : 0,79 ve SDS : 0,78)

Yapılan floresan çalışmaları sonucu hesaplanan floresans kuantum verimi, floresans ömürleri ve bazı spektral sonuçlar C35 ve pyronin bileşikleri için sırasıyla Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 25°C’de çalışılan C35 molekülünün kritik misel konsantrasyonundaki bazı fotofiziksel özellikleri

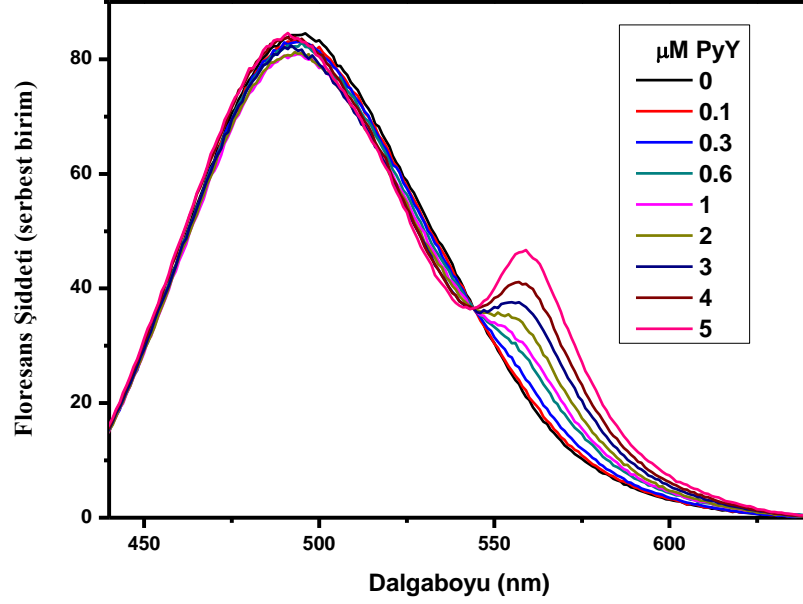
Surfaktant	λ_{abs} (nm)	λ_{fl} (nm)	τ_f (ns)	ϕ_f
SDS	412	509	0,37±0,03	0,026±0.001
CTAB	414	505	0,17±0,02	0,399±0.002
TX-100	406	495	1,07±0,10	0,210±0.005

Çizelge 4.3. 25°C’de çalışılan sürfaktant konsantrasyonlarında sırasıyla PyB ve PyY moleküllerinin bazı spektral değerleri

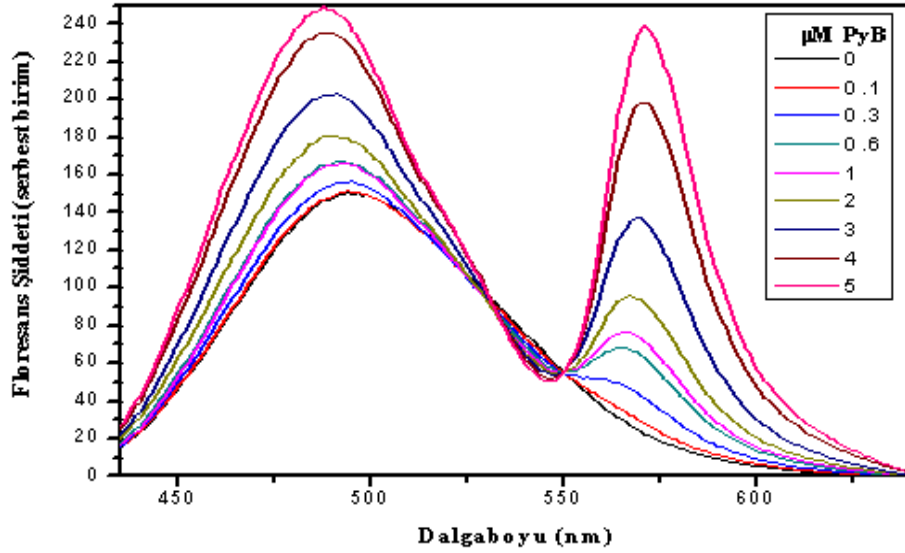
Sürfaktant	λ_{abs} (nm)	λ_{fl} (nm)
Pyronin B		
SDS	553	564
TX-100	553	565
CTAB	552	564
Pyronin Y		
SDS	548	560
TX-100	546	558
CTAB	546	558

Pyronin bileşikleri ile C35 bileşiğinin SDS, TX-100 ve CTAB misellerinin kritik misel konsantrasyon değerlerinde spektral özelliklerinin belirlenmesinden sonra pyronin bileşikleri ile C35 bileşiği arasında ilgili sistemlerde bir floresans enerji enerji transferinin olup olmayacağı araştırıldı. Gerekli ön denemeler yapılarak elde edilen sonuçlar floresans enerji transferi proseslerinde belirleyici parametreler göz önüne alınarak yorumlandı.

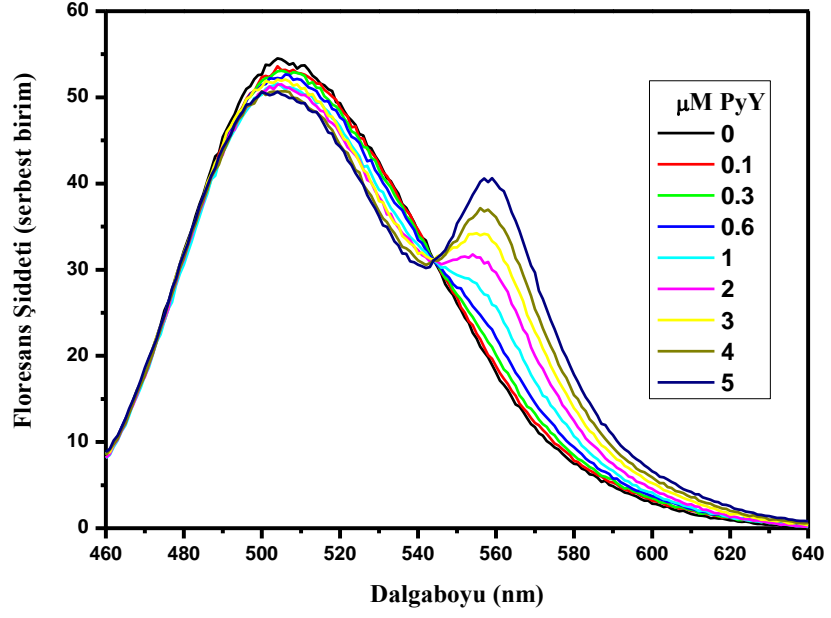
Elde edilen sonuçlardan C35-PyB ve C35-PyY çiftleri için TX-100 ve CTAB ortamında bir floresans enerji transferinin olamayacağı bunun aksine ilgili çiftler için enerji transfer prosesinin SDS ortamında olabileceği sonucuna varıldı. C35-PyY ve C35-PyB çiftleri için TX-100 ve CTAB ortamında alınmış floresans spektrumları Şekil 4.14, 4.15, 4.16 ve 4.17’de verilmiştir.



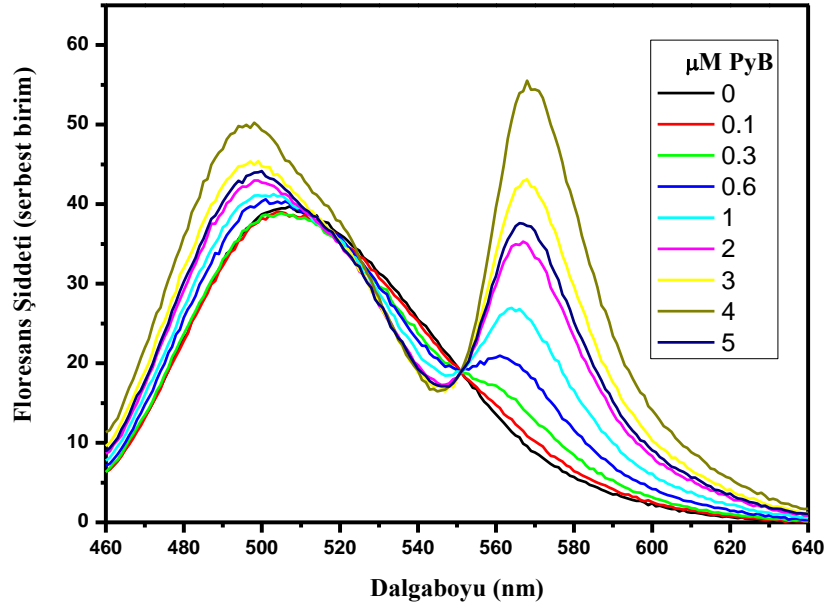
Şekil 4.14. TX-100 (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyY konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları



Şekil 4.15. TX-100 (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyB konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları

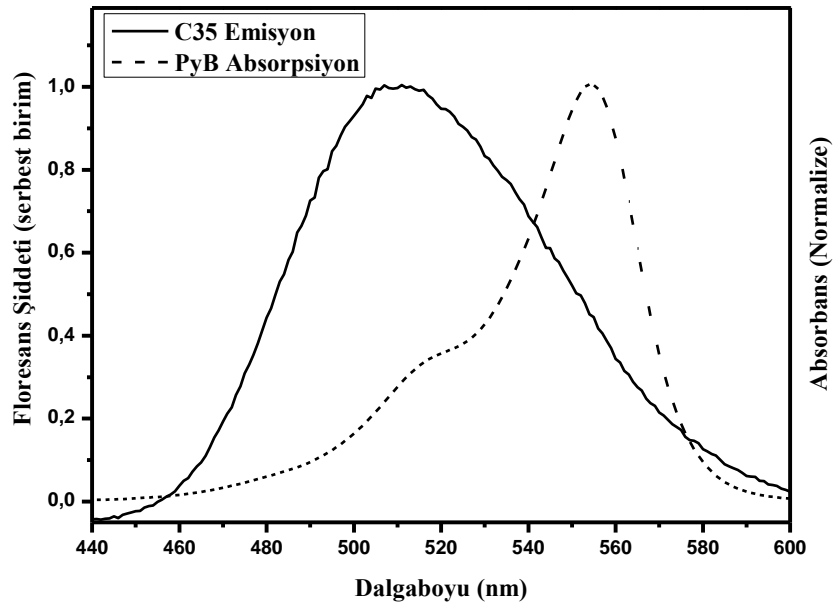


Şekil 4.16. CTAB (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyY konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları

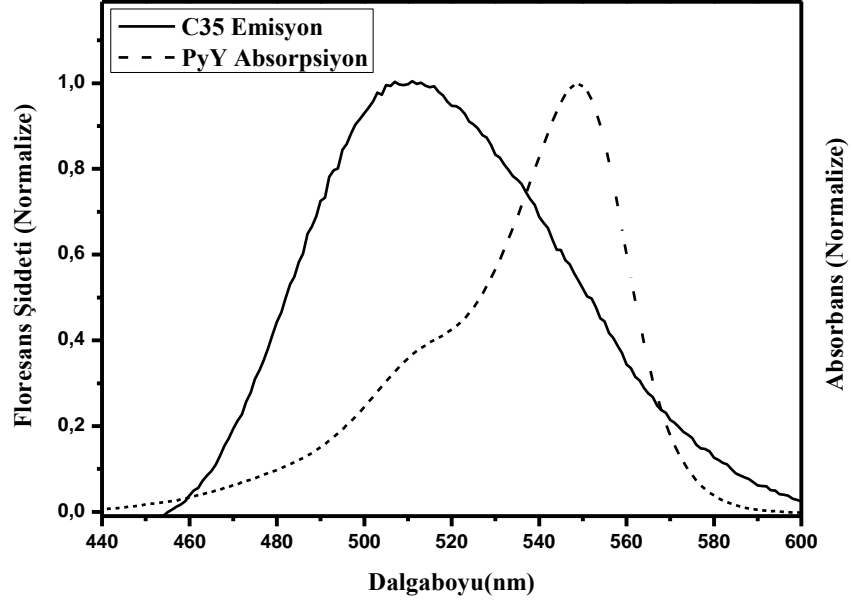


Şekil 4.17. CTAB (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyB konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları

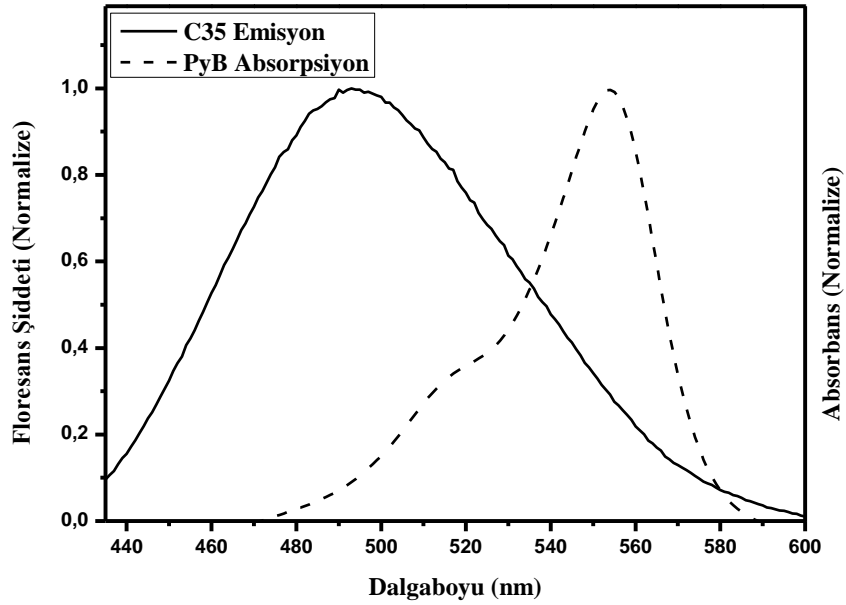
Floresans enerji transferi için önemli iki şarttan biri olan donörün (C35) floresans spektrumu ile akseptör moleküllerinin (PyY ve PyB) absorpsiyon spektrumlarının örtüşmesi durumu ilgili çiftler için enerji transfer prosesinin gerçekleştiği ve gerçekleşmediği ortamlarda incelendi. C35 ile PyB ve C35 ile PyY molekül çiftleri için spektral örtüşme durumları SDS, TX-100 ve CTAB ortamlarında sırasıyla Şekil 4.18-4.23'de verilmiştir. Daha öncede ifade edildiği gibi örtüşmenin altında kalan alan enerji transfer hız sabitinin ve Förster mesafesinin (R_0) belirlenmesinde kullanılacaktır.



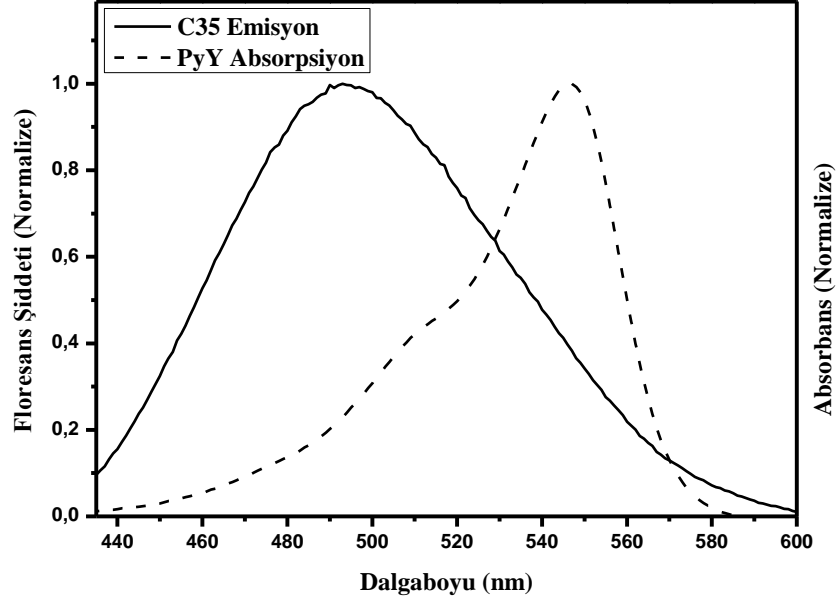
Şekil 4.18. SDS (mM) ortamında C35 ile PyB molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi



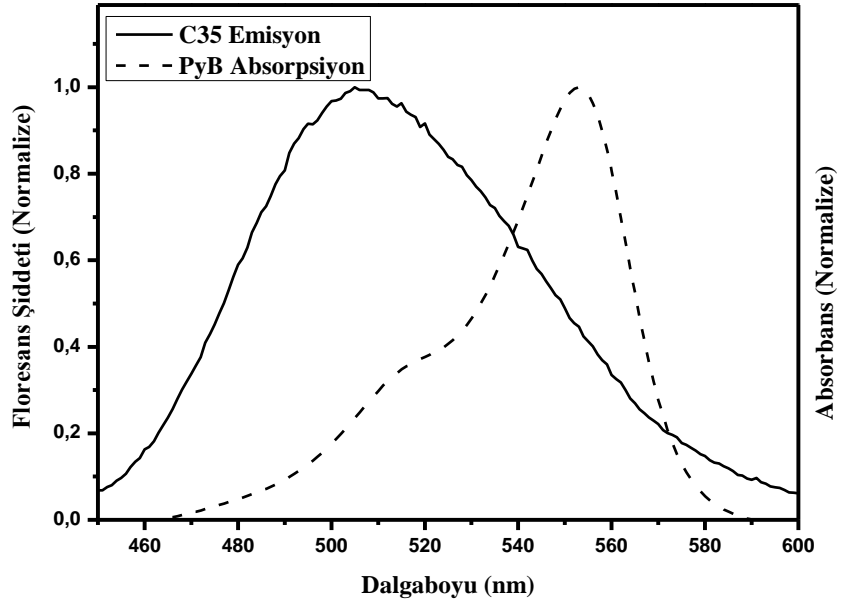
Şekil 4.19. SDS (mM) ortamında C35 ile PyY molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi



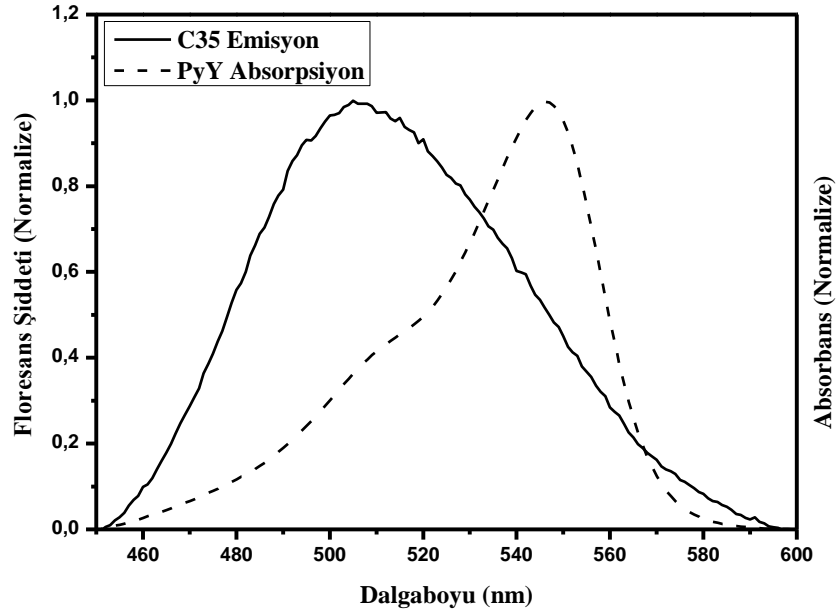
Şekil 4.20. TX-100 (mM) ortamında C35 ile PyB molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi



Şekil 4.21. TX-100 (mM) ortamında C35 ile PyY molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi

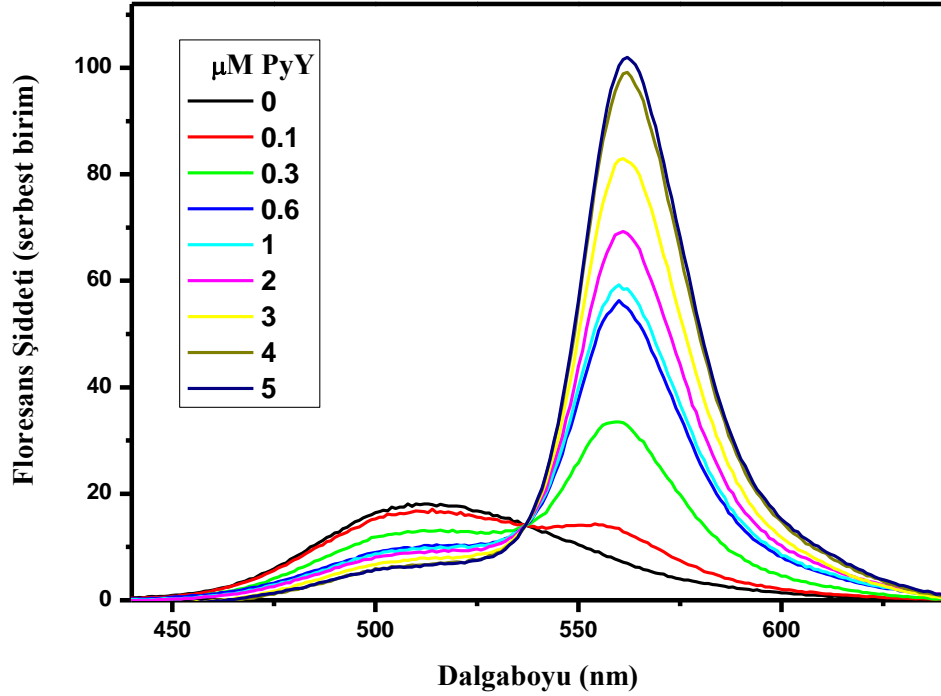


Şekil 4.22. CTAB (mM) ortamında C35 ile PyB molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi



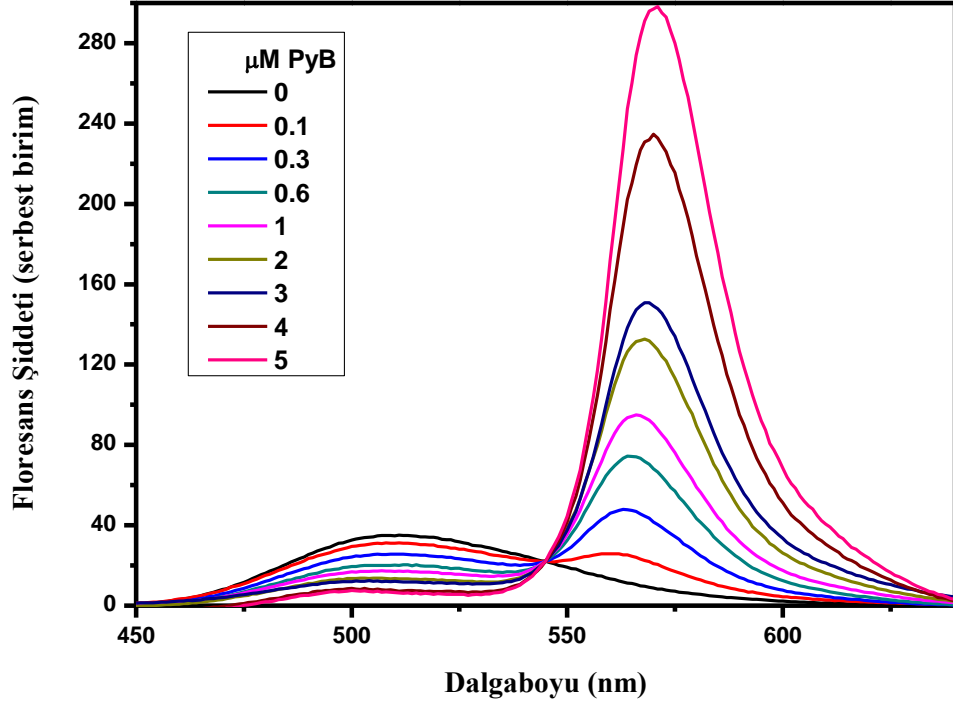
Şekil 4.23. CTAB (mM) ortamında C35 ile PyY molekül çiftlerinin spektral örtüşmesi

Yukarda donör-akseptör örtüşme alanları verilen C35-PyB (PyY) molekül çiftleri için sadece SDS ortamındakiler kullanılmıştır. Şekil 4.19'da spektral örtüşme durumu verilen C35-PyY molekül çifti için; SDS ortamında C35 molekülünün konsantrasyonu $1,0 \times 10^{-6}$ M'da sabit tutulup, PyY'nin konsantrasyonunun artırılmasıyla, C35 molekülünün emisyon bandının şiddetinde bir azalma olurken yaklaşık 560 nm'de PyY'nin floresansına karşılık gelen yeni bir bandın oluştuğu ve floresans şiddetinin, artan PyY konsantrasyonu ile arttığı gözlenmiştir. SDS ortamında PyY molekülü 560 nm'de floresans maksimumuna sahiptir (Şekil 4.24). Bu spektruma göre 430 nm'de uyarılan C35'in uyarılma enerjisini ortamda bulunan PyY'ye transfer ettiği, PyY'nin aldığı bu enerjiyi floresans yapmak suretiyle kullandığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.24. SDS (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyY konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları

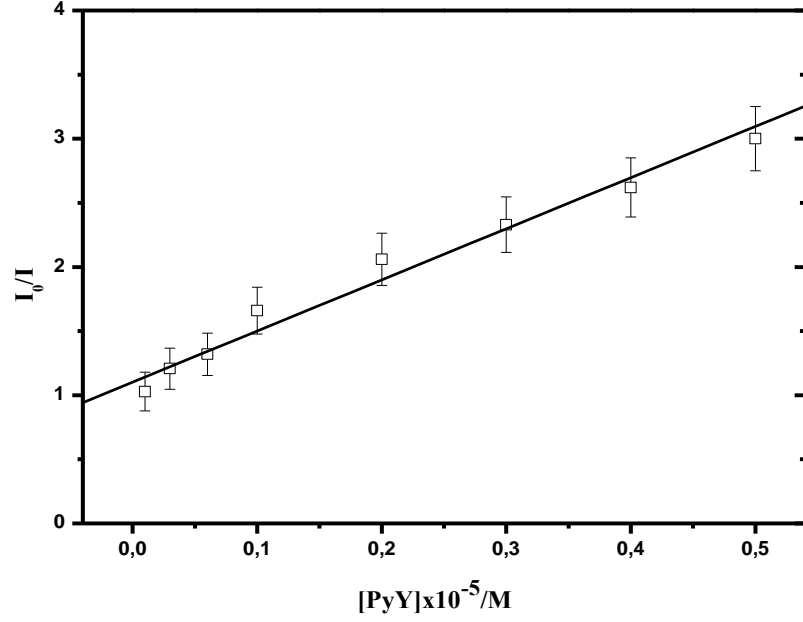
C35-PyB molekül çifti için daha önceden metanol ortamında C35 molekülünün konsantrasyonu $1,0 \times 10^{-6}$ M'da sabit tutulup, PyB konsantrasyonunun artırılmasıyla C35'in floresans şiddetinde bir azalma meydana gelirken, yaklaşık 570 nm'de yeni bir bant gözlenmişti (Toprak 2006). Buna karşın SDS ortamında 565 nm'de gözlenen floresans maksimumu ortamın polaritesindeki değişimden kaynaklanmaktadır (Şekil 4.25). Bu spektrumdan da 430 nm'de uyarılan C35 in enerjisini ortamda bulunan PyB'ye transfer ettiği ve PyB'nin de aldığı enerjiyi PyY'de olduğu gibi floresansla dışarı verdiği deneysel gözlemlerle belirlendi. Ayrıca C35-PyY molekül çifti için 536 nm ve C35-PyB molekül çifti için de 542 nm'de olmak üzere bir isosbestik nokta gözlenmiştir.



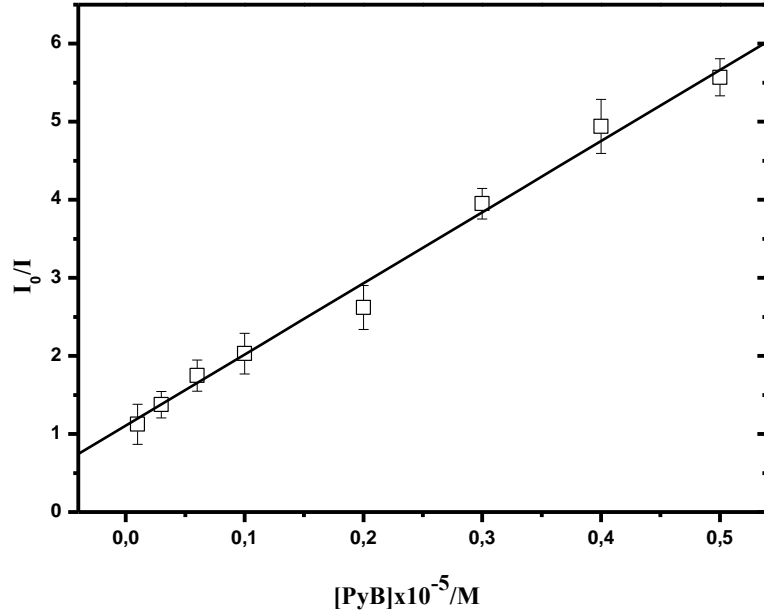
Şekil 4.25. SDS (mM) ortamında $1,0 \times 10^{-6}$ M C35'in artan PyB konsantrasyonlarında alınan düzeltilmiş floresans spektrumları

Şekil 4.24 ve 25'de verilen floresans spektrumları dikkate alındığında, pyronin bileşiklerinin floresans spektrumları alınırken kullanılan dalga boyu genelde 500 nm dir. Burada 430 nm uyarma dalga boyu ile ilgili sistemlerde pyronin bileşiklerinin floresan bantları elde edilmiştir. 430 nm uyarma dalga boyu ile elde edilen bu durum floresans enerji transfer prosesini açıkça göstermektedir.

Pyronin bileşiklerinin konsantrasyonunun artırılmasıyla, C35'in floresans şiddetinde gözlenen azalma, kuençleşme prosesi olarak düşünülebilir. Bu nedenle SDS ortamında C35 için denklem 1.1'de verilen Stern-Volmer denklemine göre çizilecek grafikten Stern-Volmer sabitleri (K_{SV}) belirlenebilir. SDS ortamında C35'in PyY ve PyB' nin değişik konsantrasyonlarına göre çizilen Stern-Volmer grafikleri sırasıyla Şekil 4.26 ve Şekil 4.27'de verilmiştir.



Şekil 4.26. SDS ortamında C35'in artan PyY konsantrasyonuna karşı çizilmiş Stern-Volmer grafiği (R= 0,96)



Şekil 4.27. SDS ortamında C35'in artan PyB konsantrasyonuna karşı çizilmiş Stern-Volmer grafiği (R=0,96)

Şekil 4.26 ve 27’de verilen grafiklerin eğimlerinden Stern-Volmer sabiti (K_{SV}) PyY ve PyB için sırasıyla, 423842 M^{-1} ve 888997 M^{-1} olarak belirlendi.

C35’in kuençleşme prosesine bağlı olarak floresans kuantum veriminde de az da olsa bir azalma gözlenmiştir. Çizelge 4.4’de SDS ortamında C35’in değişik PyY ve PyB konsantrasyonlarına bağlı olarak floresans kuantum verimleri verilmiştir.

Çizelge 4.4 C35’in SDS ortamında değişik PyY ve PyB konsantrasyonlarındaki floresans kuantum verimleri

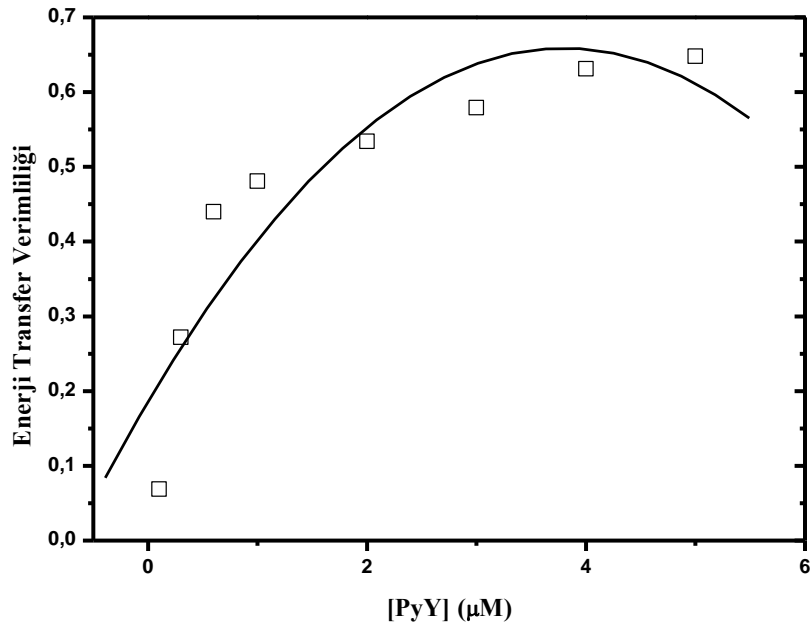
[PyY] /M	ϕ_f	[PyB] /M	ϕ_f
0	0,0255±0,001	0	0,0255±0,001
$1,0 \times 10^{-7}$	0,0218±0,001	$1,0 \times 10^{-7}$	0,0220±0,001
$3,0 \times 10^{-7}$	0,0180±0,001	$3,0 \times 10^{-7}$	0,0185±0,001
$6,0 \times 10^{-7}$	0,0165±0,001	$6,0 \times 10^{-7}$	0,0160±0,001
$1,0 \times 10^{-6}$	0,0135±0,001	$1,0 \times 10^{-6}$	0,0130±0,001
$2,0 \times 10^{-6}$	0,0112±0,001	$2,0 \times 10^{-6}$	0,0098±0,001
$3,0 \times 10^{-6}$	0,0085±0,001	$3,0 \times 10^{-6}$	0,0067±0,001
$4,0 \times 10^{-6}$	0,0057±0,001	$4,0 \times 10^{-6}$	0,0055±0,001
$5,0 \times 10^{-6}$	0,0048±0,001	$5,0 \times 10^{-6}$	0,0043±0,001

Çizelge 4.4’de verilen değerler dikkate alındığında ortama pyronin bileşiklerinin ilave edilmesiyle C35’in kuantum veriminde bir azalma olduğu belirlenmiştir. Bu durum ışımsız gerçekleşen floresans enerji transferinin bir sonucudur.

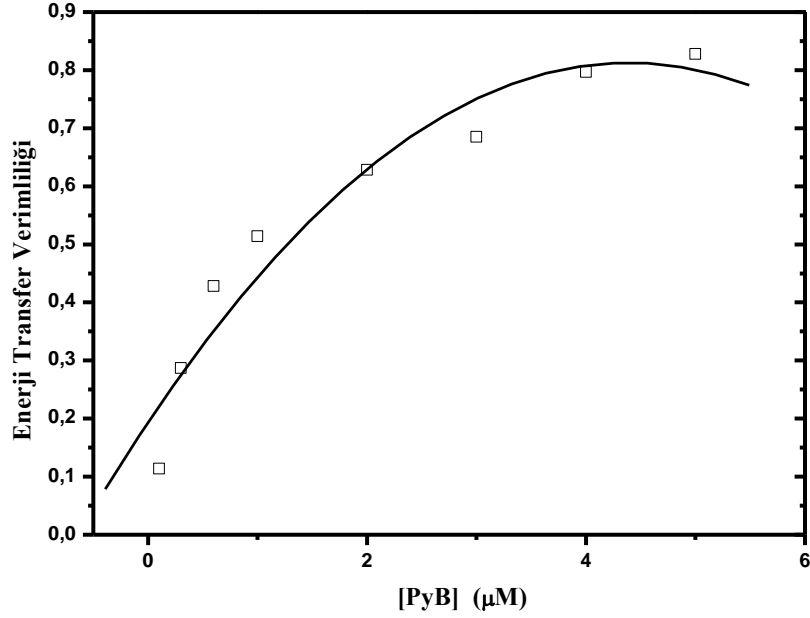
Floresans enerji transfer olayının, Förster kinetiğine göre tartışılabilmesi, Förster mesafesi veya kritik enerji transfer mesafesinin (R_0), enerji transfer verimliliğinin belirlenmesiyle mümkündür. Bu nedenle denklem 1.11 ile enerji transfer verimliliği ve denklem 1.7 ile de Förster mesafesi (R_0) hesaplandı. Förster mesafesinin hesaplanmasında önemli bir parametre olan örtüşme alanı (J), SDS ortamında C35-PyY çifti için Şekil 4.19’dan, C35-PyB çifti için Şekil 4.18’den hesaplandı. Buna göre elde

edilen R_0 değerleri izelge 4.5’de verilmiştir. Förster kinetiğine göre R_0 için en ideal aralık 10-100 Å olduğu bilinmektedir (Förster 1948, 1949).

Enerji transfer verimliliği de Förster kinetiğine göre önemli parametrelerden biridir. C35-PyY ve C35-PyB molekül çifti için elde edilen enerji transfer verimliliği önceden de ifade edilen denklem 1.11 ile hesaplandı. Ayrıca doner-akseptör arasındaki mesafe 1.12 denklemi esas alınarak hesaplandı. Enerji transferinin gerçekleşme yüzdesini veren enerji transfer verimliliği, PyY’nin ve PyB’nin değişen konsantrasyonlarına bağlı olarak çizilen grafikler Şekil 4.28 ve Şekil 4.29’da ve hesaplanan diğer enerji parametreleri ise izelge 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.28. SDS ortamında C35- PyY molekül çifti için enerji transfer verimliliği



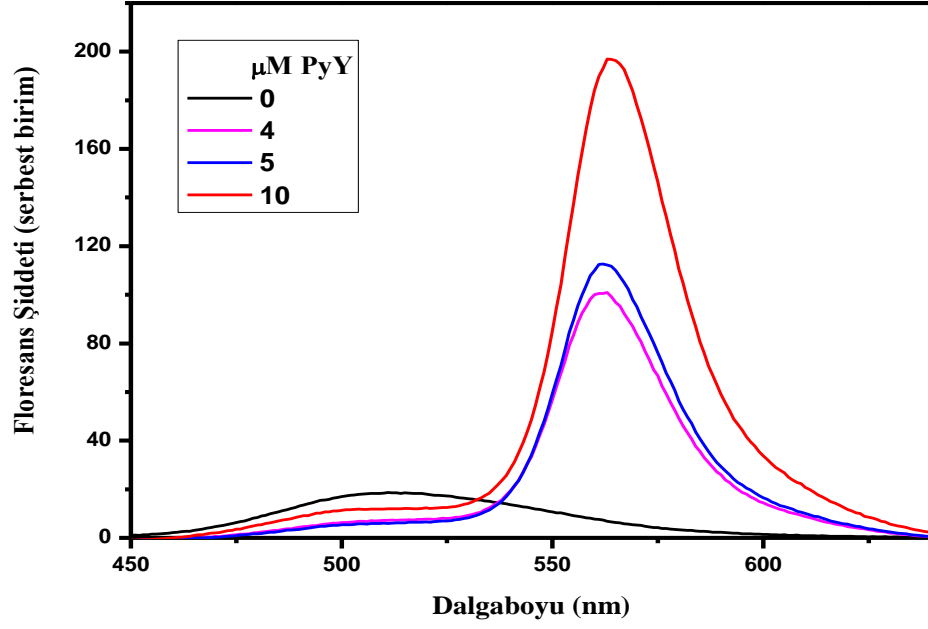
Şekil 4.29. SDS ortamında C35- PyB molekül çifti için enerji transfer verimliliği

Çizelge 4.5. SDS ortamındaki enerji transfer parametreleri

	$K_{SV} (M^{-1})$	$k_{T(I)} (M^{-1}s^{-1})$	$k_{T(II)} (s^{-1})$	$R_0 (\text{Å})$	$r (\text{Å})$	E
C35-PyY	$4,24 \times 10^5$	$1,15 \times 10^{15}$	$6,88 \times 10^8$	38,53	34,75	0,65
C35-PyB	$8,90 \times 10^5$	$2,40 \times 10^{15}$	$1,78 \times 10^9$	29,04	22,29	0,83

Burada $k_{T(I)}$; Stern-Volmer 1.1 denleminden, $k_{T(II)}$ ise 1.4 denklemiyle hesaplanmıştır

Enerji transfer verimliliğini artırmak için PyB ve PyY konsantrasyonu artırıldığında, C35 molekülünün polariteye bağlı olarak floresans bant maksimumunda mavi bölgeye, pyronin bileşikleri için ise kırmızıya kayma gözlenmiştir. Bu kayma C35 ile pyronin bileşiklerinin spektral örtüşmelerinin azalmasına ve dolayısıyla enerji transfer verimliliğinde bir azalmaya sebep olmaktadır. Bu durum PyY molekülü için Şekil 4.30' da verilmiştir.



Şekil 4.30. SDS ortamında artan PyY konsantrasyonuna bağlı olarak C35-PyY molekül çiftinin düzeltilmiş floresans spektrumu

5.SONUÇ

Bu çalışmada C35 molekülünün SDS, CTAB ve TX-100 için kritik misel konsantrasyonunu spektroskopik teknik yardımıyla belirlendi (De Paula 2004). C35-PyB ve C35-PyY bileşiklerinin SDS, TX-100 ve CTAB ortamlarında floresans enerji transferi için uygun molekül çiftleri olup olmadıkları spektroskopik tekniklerle incelendi.

Donor molekülü C35 ile akseptör molekülleri PyB ve PyY için CTAB ve TX-100 ortamlarında uygun molekül çiftleri olmadıkları belirlendi. Bunun sebebi CTAB surfaktantının yükünün dye bileşikleriyle aynı olması nedeniyle elektrostatik itmelerden dolayı molekül çiftleri floresans enerji transferi yapabilecek etkin mesafeye gelememesidir. TX-100 ise nötr bir surfaktant olmasından dolayı etkin bir elektrostatik etkileşme gerçekleşmeyip, floresans enerji transferi meydana gelmemiştir. SDS surfaktantı içeren miselli ortamda ise bu molekül çiftlerinin floresans enerji transferi için Stern-Volmer ve Förster kinetiğine göre uygun moleküller oldukları belirlenmiştir. Förster kinetiğine göre R_0 için ideal aralığın 10-100 Å olması göz önüne alındığında, C35-PyB molekül çiftlerinin uzak mesafeli dipol-dipol etkileşmesinden, C35-PyY molekül çiftinin ise yakın mesafeli dipol-dipol etkileşmesinden etkilendiği sonucu ortaya çıkmaktadır. (Ghazy 2001; Azim 2000; El-Daly1999).

Spektral örtüşmeler ve Çizelge 4.3'deki enerji transfer parametreleri olan k_T ve R_0 değerleri dikkate alındığında, SDS'li ortamın C35-PyB ve C35-PyY molekül çiftleri için floresans enerji transferine uygun oldukları sonucuna varılmıştır. E değerini daha yükseltmek için akseptör konsantrasyonunu artırdığımızda, C35-PyY molekül çifti için donör molekülünün emisyon spektrumunun maviye kayması, konsantrasyon artışıyla ortamın polaritesinde bir değişimin gerçekleştiği sonucuna varılmıştır (Reichardt 1990). C35-PyB molekül çifti için ise yüksek konsantrasyonlara gidilmesi farklı etkileşmeleri beraberinde getirecektir. Bu nedenle PyB bileşiğinin yüksek konsantrasyonlarda çalışılması tercih edilmemiştir.

KAYNAKLAR

- Arik, M., Onganer, Y., **2003**. Molecular excitons of Pyronin B and Pyronin Y in colloidal silica suspension. *Chem. Phys. Lett.*, 375, 126-133.
- Aydın, B.M., Acar, M., Arik, M., Onganer, Y., **2009**. The fluorescence resonance energy transfer between dye compounds in micellar media. *Dyes and Pigments*, 81, 156-160.
- Azim, S.A., Ghazy R., Shaheen, M., El-Mekawey, F., **2000**. Investigations of energy transfer from some diolefinic laser dyes to Rhodamine 110. *J. Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 133, 185-188.
- Baptista, M., Inding, G. L., **1998**. Effect of BSA binding on photophysical and photochemical properties of triarylethane dyes. *J. Phys. Chem. B*, 102, 4678.
- Behera, G.B., Mishra B.K., Behera P.K., Panda M., **1999**. Fluorescent probes for structural and distance effect studies in micelles, reversed micelles and microemulsions. *Advanced in Colloid and Interface Science*, 82, 1.
- Chakraborty, A., Chakraborty, D., Hazra, P., Seth, D., Sarkar, N., **2003**. Photoinduced intermolecular electron transfer between Coumarin dyes and electron donating solvents in cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) micelles: evidence for Marcus inverted region. *Chem. Phys. Lett.*, 382, 508-517.
- Christie, R. M. And Lui, C. H., **1999**. Studies of fluorescent dyes: part 1. An investigation of the electronic spectral properties of substituted coumarins. *Dyes and Pigments*, 42, 85-93.
- Daintith, J., **2000**. *A Dictionary of Chemistry*. Oxford University Press, Fourth., New York.
- Das, K., B., Jain, **2005**. Hydrogen bonding properties of coumarin 151, 500, and 35: the effect of substitution at the 7-amino position. *J. Phys. Chem. A*, 110, 1968-1704
- De-Paula, R., Machado, A. E. da H., Miranda J. A., **2004**. 3-Benzoxazol-2-yl-7-(N,N-diethylamino)-chromen-2-one as a fluorescence probe for the investigation of micellar microenvironments. *J. Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 165, 109-114.
- De, S., Girigoswami A., **2004**. Fluorescence resonance energy transfer- a spectroscopic probe for organized surfactant media. *J. Colloid and Interface Science*, 271, 485-495.
- El-Daly, S.A., **1999**. Photophysical properties: Laser activity of and energy transfer from 1,4-bis[β -(2-benzothiazolyl)vinyl]benzene(BVB). *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 124, 127-133.
- El-Daly, S.A., **1999**. Spectral, life-time, fluorescence quenching, energy transfer and Photodecomposition of N,N'-bis(6-dimethyl phenyl)-3,4:9,10 perylene-tetracarboxylic diimide(DXP). *Spectrochim. Acta Part A*, 55, 143
- Ghazy, R., S.A., Zim, **2001**. Experimental investigations on energy-transfer characteristics and performance of some laser dye mixtures. *Optics & Laser Technology*, 34, 99-105.
- Guy, D., Fabienne, M., **1995**. Fluorescence energy transfer in lipid vesicles. A Time-resolved analysis using stretched exponentials. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 89, 135-140.

- Hong-Ruli, Fang, Gao, **2000**. Energy transfer of ionic dyes in mixed surfactant vesicle. *Res. Chem. Intermed.* 26,575-585.
- Hueder, P.M. de O., **2003**. Electronic energy transfer between fluorescent dyes with inter and intramolecular interactions. *Chem. Phys.* 290, 85-91.
- Kaholek, M., Hrdlovic, P., **1999**. Characteristics of the excited states of 3-substituted coumarin derivatives and transfer of electronic energy to N-oxyl radicals. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*,127, 45-55
- Kalyanasundaram, K., **1987**. *Photochemistry in Microheterogeneous System*, Academic press, Inc., New York.
- Kozyra K. A., Heldt J. R., Diehl H. A., Heldt, J., **2002**. Electronic energy transfer efficiency of mixed solutions of the donor-acceptor pairs: coumarin derivatives-acridine orange. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 152, 199-205.
- Lakowicz, J. R., **2002**. *Volume 2 principles*. Kluwer Academic publishers, New York
- Lakowicz, J. R., **1983**. *Principle of fluorescence spectroscopy*. Plenum Press, New York
- Mallick, A., Haldar, B., Sengupta, S., Chattopadhyay, N., **2006**. 7-Hydroxy-4-methyl-8-(4'-methylpiperazine-1'-yl)methyl coumarin: An efficient probe for fluorescence resonance energy transfer to a bioactive indoloquinolizine system. *J. Lumin.*,118,165-172.
- May, B., Poteau, X., Yuan, D., Brown, R.G., **1999**. A study of a highly efficient resonance energy transfer between 7-N,N-diethylamino-4-methylcoumarin and 9-butyl-4-butylamino-1,8-naphthalimide. *Dyes and Pigments*, 42, 79-84.
- Mitsui, T., Nakano, H., Yamana, K., **2000**. Coumarin-fluorescein pair as a new donor-acceptor set for fluorescence energy transfer study of DNA. *Tetrahedron Lett.*, 41, 2605-2608.
- Nemkowich, N. A., Reis, H. and Baumann, W., **1997**. Ground and excited state dipole Moments of coumarin laser dye: Investigation by electro-optical absorption and emission methods. *J. Lumin.*, 71,255-263.
- Pampa P., P., R., Chiuri, T., Pellegrino.,**2005**. Fluorescence resonance energy transfer induced by conjugation of metalloproteins to nanoparticles. *Chem. Phys.Lett.*, 417,351-357.
- Reichardt, C., **1994**. *Solvent and solvent effect in organic chemistry*. Verlagsgesellschaft mbH, D-6940 Weinheim (Federal Republic of Germany)
- Rohatgi, K.K., Singhal, G.S., **1966**. Nature of bonding in dye Aggregates. *J. Phys. Chem.*, 70 (6), 1965-1701.
- Sanchez, G. F., Ruiz, C. C., **1996**. Intramolecular energy transfer in aqueous CTAB solutions. *Journal of Luminescence*, 69, 179-186.
- Seth, D., Debdeep, C., Chakraborty, A., Sarkar, N., **2005**. Study of energy transfer from 7-amino coumarin donors to rhodamine 6G acceptor in non-aqueous reverse micelles. *Chem. Phys. Lett.*,401, 546-552.
- Shin-ichi, Murata, Jozef, K., **2000**. Donor fluorescence decay analysis for energy transfer in double-helical DNA with various acceptor concentrations. Institute of experimental physics, university of Gdansk, ul,57, 80-952.
- Skoog D.A., Leary J.J., **1992**. *Principles of Instrumental Analysis.*, Fourth Edition, Saunders "College Publishing. Fort Worth.
- Steinberg I., **1971**. Long-range nonradiative transfer of electronic excitation energy in proteins and polypeptides. *Ann. Rev. Biochem.*, 40,83.

- Stryer L., **1978**. Fluorescence energy transfer as a spectroscopic ruler. *Ann. Rev. Biochem.*, 47,819.
- Sujan Chatterjee, Susantamay, N., **2005**. Fluorescence resonance energy transfer from fluorescein to safranin T in solutions and in micellar medium. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 173, 221-227.
- Toprak M. **2006**. Metanol ortamında kumarin 35 ile pyronin bileşikleri arasındaki floresans enerji transferinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Karabük'te doğdu. İlk ve orta öğrenimini Karabük'te tamamladı. 1996 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nden 2001 yılında mezun oldu.

Çat Cumhuriyet Yatılı İlköğretim Bölge Okulu'nda 2004 yılından beri Sınıf Öğretmeni olarak çalışmaktadır.