

T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI 8-ANİLİNOBODİPY BOYALARININ SENTEZİ VE SUDA
KROMOFLOROJENİK NİTRİT İYONU TESPİTİ
UYGULAMALARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Mustafa BÜRKEK

GIDA GÜVENLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Murat IŞIK

BİNGÖL—2025

ÖNSÖZ

Tez çalışmaları süresince yardımlarını ve bilgi birikimini esirgemeyen, çalışmaların tamamlanabilmesi için gerekli desteği veren değerli hocam Prof. Dr. Murat IŞIK’a teşekkür ederim.

Bu süreçte her zaman yanımda olan ailem ve özellikle değerli ağabeyim Şahin BÜRKEK’e teşekkür ederim.

Mustafa BÜRKEK

Bingöl 2025

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ..	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Spektrofotometrik Yöntemler.....	4
2.2. Kemilüminesans	5
2.3. Elektrokimyasal Algılama	5
2.4. Kromatografi (HPLC, İyon)	5
2.5. Kapiler(kılcal) Elektroforez.....	5
2.6. Spektroflorimetrik Yöntemler	6
2.7. Tasarımımız.....	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM	8
3.1. Materyal.....	8
3.2. Sentetik Yöntemler.....	8
3.2.1. 8-(4-Nitrophenyl) BODIPY (1 ve 2) bileşiklerinin sentezi için yöntemler.....	9
3.2.2. 8-(4-Anilino) BODIPY (NP-1 ve NP-2) bileşiklerinin sentezi için genel yöntem.....	10
3.2.2.1. NP-1 Bileşiğinin Yapısal Karakterizasyonu.....	10
3.2.2.2. NP-2 Bileşiğinin Yapısal Karakterizasyonu.....	10
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	11
4.1. NP-1'in (Nitrit Probu 1) Sentez Çalışmaları	12
4.2. NP-2'nin (Nitrit Probu 2) Sentez Çalışmaları	12
4.3. UV-vis ve Floresans Spektroskopi Karakterizasyonları.....	13
4.4. NMR Titrasyon Deneyi	16

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	19
KAYNAKLAR	20
EKLER.....	26
Ek A	26

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

NP-1	: Nitrit Prob 1
NP-2	: Nitrit Prob 2
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Na ₂ SO ₄	: Sodyum Sülfat
DCM	: Diklorometan
TFE	: Trifloroasetikasit
TEA	: Trietilamin
BF ₃	: Bortriflorür
DDQ	: 2,3-Diklor-5,6-Disiyano-1,4-Benzokinon
CDCl ₃	: Döterokloroform
d ₄	: Asetik Asit: Dötero-asetik asit
1a	: Dipirometan
1b	: Dipirometen
2a	: Dipirometan
2b	: Dipirometen

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	NP-1 ve NP-2'in nitrit ile diazotizasyon tepkimesi.....	7
Şekil 4.1.	NP-1 ve NP-2'in sentez rotası.....	11
Şekil 4.2.	NP-1 ve NP-2 bileşiklerinin UV-vis spektroskopisi ile pH duyarlılığı	16
Şekil 4.3.	NP-1 ve NP-2 bileşiklerinin pH 2.0'da nitrite duyarlılığının UV-vis spektrometri yöntemi ile karakterizasyonu.....	15
Şekil 4.4	NP-1 ve NP-2 bileşiklerinin floresans emisyonlarına pH'nın etkisi.....	16
Şekil 4.5	a) NP-1 bileşiğinin d4-asetik asit içinde alınmış NMR spektrumu (600 MHz, 25 °C), b) NP-1 bileşiğinin d4-asetik asit çözeltisine 2 eşdeğer NaNO ₂ eklendikten 1 dakika sonra alınan NMR spektrumu (600 MHz, 25 °C).....	17
Şekil A.1.	NP-1 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 25 °C).....	26
Şekil A.2.	NP-1 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 25 °C).....	27
Şekil A.3.	NP-2 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (CDCl ₃ , 25 °C).....	27
Şekil A.4.	NP-2 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃ , 25 °C).....	28

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. NP-1 ve NP-2 bileşiklerinin pH duyarlılığı (UV-vis spektroskopisi).....	14
--	----

BAZI 8-ANİLİNOBODIPY BOYALARININ SENTEZİ VE SUDA KROMOFLOROJENİK NİTRİT İYONU TESPİTİ UYGULAMALARI

ÖZET

Bu çalışmada, iki 8-(4-anilino) BODIPY türevi (**NP-1** ve **NP-2**) sentezlenmiş ve nitrit iyonu algılama potansiyelleri incelenmiştir. Bileşikler, literatür rehberliğinde 4-nitrobenzaldehit ve 2,4-dimetilpirol bileşiklerinin asidik ortamda kondenzasyonu ile ilgili dipirometan türevlerine dönüştürülmüştür. Daha sonra, bu türevler DDQ oksidantı kullanılarak yükseltgenmiş ve dipirometan türevlerine çevrilmiştir. Ardından, bazik ortamda bor triflorür eteratı ile muamele edilerek hedef problemlerin öncü bileşikler olan 8-(4-nitrofenil) BODIPY türevleri elde edilmiştir. Bu bileşikler, asidik ortamda demir (demir tozu) ile indirgenerek hedef 8-(4-anilino) BODIPY bileşikler (**NP-1** ve **NP-2**) başarıyla sentezlenmiştir.

UV-vis spektroskopisi, **NP-1**'in H-süstitüsyonları nedeniyle pH değişimine bağlı belirgin bir kırmızıya kayma (6 nm) sergilediğini, **NP-2**'nin ise metil süstitüsyonlarından kaynaklı sterik etkilerle daha sınırlı bir kayma (3 nm) gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, pH'nın problemlerin floresans emisyonları üzerindeki etkisi incelendiğinde, artan asidik koşullar altında **NP-2**'nin emisyon geri kazanımının, **NP-1**'e kıyasla yaklaşık 85 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Floresans emisyon analizlerinde, **NP-2**'nin yüksek başlangıç emisyonu nitrit varlığında ani bir şekilde kaybolurken, **NP-1**'in düşük emisyonuyla renk değişimi yoluyla algılama sağladığı belirlenmiştir. Sonuçlar, **NP-1**'in kolorimetrik, **NP-2**'nin ise floresans probu olarak nitrit algılama için uygun adaylar olduğunu göstermiştir. Bu çalışmanın, farklı analitler için yeni prob tasarımlarına ilham olması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: BODIPY, nitrit iyonu, gıda güvenliği, floresans problemler, kolorimetrik problemler.

SYNTHESIS OF SOME 8-ANILINO BODIPY DYES AND THEIR APPLICATIONS IN CHROMOFLUOROGENIC DETECTION OF NITRITE IONS IN WATER

ABSTRACT

In this thesis study, two 8-(4-anilino) BODIPY derivatives (**NP-1** and **NP-2**) were synthesized, and their potential for nitrite ion detection was investigated. The compounds were prepared by condensing 4-nitrobenzaldehyde and 2,4-dimethylpyrrole in an acidic medium to obtain the corresponding dipyrromethane derivatives. Subsequently, these derivatives were oxidized using DDQ to produce dipyrromethene intermediates. These intermediates were then treated with boron trifluoride etherate in a basic medium to yield the precursor compounds, 8-(4-nitrophenyl) BODIPY derivatives. Finally, these compounds were reduced with iron (iron powder) in an acidic medium to successfully synthesize the target 8-(4-anilino) BODIPY derivatives, **NP-1** and **NP-2**.

UV-vis spectroscopy revealed that **NP-1** exhibited a significant red shift (6 nm) in response to pH changes due to the electronic delocalization effects of hydrogen substitution at the 5- and 7-positions. In contrast, **NP-2**, with methyl substituents at these positions, displayed a more limited red shift (3 nm) due to steric hindrance. Moreover, when the effect of pH on the fluorescence emissions of the probes was investigated, it was found that under increasingly acidic conditions, the emission recovery of **NP-2** was approximately 85 times higher compared to that of **NP-1**.

Fluorescence emission analysis showed that **NP-2** exhibited high initial fluorescence emission, which diminished sharply in the presence of nitrite ions. **NP-1**, on the other hand, demonstrated low emission, enabling detection through colorimetric changes. The findings suggest that **NP-1** is a suitable candidate for colorimetric sensing, while **NP-2** is better suited as a fluorescence probe for nitrite detection. This study is expected to inspire the design of new probes for various analytes.

Keywords: BODIPY, nitrite ion, food safety, fluorescence probes, colorimetric probes.

1. GİRİŞ

Su kaynaklarında ve gıda maddelerinde izin verilen limitlerin üzerindeki nitrit (NO_2^-) iyonu konsantrasyonları tehlikeli kabul edilir ve çevre ve halk sağlığı için bir tehdit oluşturduğu kanıtlanmıştır (Yılmaz, 2021). Modern gıda ve tarım endüstrisi, nitriti gıda koruyucusu ve gübre olarak yoğun bir şekilde kullanır, bu da nitritin aşırı konsantrasyonunu insan ve halk sağlığı ile ilgili olduğu için kritik derecede önemli kılar (Karwawska ve ark. 2020). İçme sularındaki inorganik kirleticiler arasında en yaygın iyonlardan birinin nitrit olduğu bilinmektedir (Adarsh ve ark. 2013). Organik azotun son ürünü nitrattır. Nitrat iyonları doğrudan toksik etkiye sahip değildir. Nitrat, bakteriyal nitrat redüktaz aktivitesi vasıtasıyla zararlı nitrit iyonlarına dönüşmektedir. Nitrit ise hemoglobin ile etkileşime girerek methemoglobin oluşumuna neden olur. Hemoglobindeki Fe^{+2} yükseltgenerek Fe^{+3} 'e dönüşmekte ve böylece kanın O_2 taşıması işlevini önlemekte veya azaltmaktadır (Özdestan ve ark. 2010).

Nitrit iyonu tarımsal faaliyetlerde kullanılan azot gübrelerinden, uygun olmayan atık drenajından ve atmosferik yağışlardan kaynaklanan hem yüzey suyu hem de yeraltı kirletici olarak kabul edilmektedir. İstenmeyen uzun süreli ve/veya yüksek düzeyde NO_2 alımının infatil metmiyoglobinemisi (mavi bebek sendromu olarak ta bilinir) artan kanser insidansı ve hatta ölüm gibi sorunlara da sebep olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda NO_2^- ve NO_3^- iyonlarının birçok metabolik fonksiyon (nörotransmitter ve tromboz) için vekil belirteç olarak davrandığı görülmüştür (Lo ve ark., 2017).

NO_2 'nin protein ile etkileşimi N-nitrozaminlerin oluşumuna yol açar. Nitrozaminler, R'nin genellikle alkil grubu olduğu $\text{R}_2\text{N}-\text{N}=\text{O}$ kimyasal yapısının organik bileşikleridir. Protonsuz bir amine bağlı nitroso grubuna (NO^+) sahiptirler. Çeşitli gıdaların ve tütünün fermentasyonu sırasında gastrointestinal sistemde bulunan asidik koşullar altında nitrit koruyucuların aminlerle *invivo* reaksiyonu ile oluşan kanserojenlerdir (K. C. Rout ve ark. 2015).

Nitrit aynı zamanda doğanın nitrojen döngüsünde önemli rol alır. Özellikle biyokimyasal süreçlerin düzenlenmesinde ve kontrolünde etkindir. Nitrit, uzun bir geçmişe sahip olan bir gıda koruyucusudur. Mikroorganizmaların büyümesini ve gelişmesini engelleyerek et ve et ürünlerinin bozulmasını önlemek amacıyla kullanılmıştır (Z. Qi ve ark. 2016).

Nitrit gıda zehirlenmesine neden olan *Clostridium Botulinum* gelişimini önlemek amacıyla çok az miktarda et ürünlerinde kullanılır. Aynı zamanda kürlenmiş ete karakteristik renk, lezzet ve aroma vermektedir. Ayrıca pH 5,7-6,0 olan bir üründe sodyum nitritin 200 mg/kg'lık konsantrasyonunu *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* ve *Escherichia* cinsi bakterilerin gelişimini engellemektedir. Konu ile ilgili gerçekleştirilen bir çalışmada, laboratuvar ortamında ısıtma işlemi ve nitrit uygulamasının 30 *Clostridium* suşunu inhibe ettiği ifade edilmiştir (Ö. Özdekan ve ark. 2010).

Yoğun kimyasal gübre kullanımı ve hayvancılık atıklarından kaynaklı olarak çok miktarda reaktif azotun salındığı ve nitrit gibi azot içeren bileşikler şeklinde sucul sistemlerde son bulan bir döngü olduğu bilinmektedir. Nitrit su kütlelerinde aşırı ötrifikasyon ve alg büyümesinden sorumludur. Bu durumda nitritin besin zincirine girebilir olduğunu kanıtlamaktadır (A. Gill ve ark. 2019).

Vücuda alınan nitratin önemli bir kısmı dışkı yoluyla atılmakta iken bir kısmı da tükürük bezlerine taşınmakta ve ağız yoluyla salgılanmaktadır. Burada ağızda bulunan bakteriler tarafından nitrite indirgenir ve yutma yoluyla mideye taşınır. Nitrit varlığında gıda sisteminin fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak bazı kompleks reaksiyonlar oluşturmaktadır. Nitrit, hem indirgen hem de yükseltgen bir madde olup; organik maddelere karşı aşırı derecede reaktiftir ve ısıya karşı dayanıklı değildir. Toplum sağlığı açısından nitrarın en önemli özelliği nitrar ve mide kanseri arasındaki ilişkidir (Ö. Özdekan ve ark. 2010).

Ayrıca nitrit, organik sentez ve tarım kimyasallarının üretiminde, farmasötiklerde ve birçok endüstriyel ürünün bileşiminde rol oynamaktadır. (B. Gu ve ark. 2016) Çevre Koruma Ajansı nitrit seviyesini 1 ppm olarak belirlemiştir. (A.Gill ve ark. 2019) Dünya Sağlık Örgütü ve Gıda Katkı Maddeleri (WHO/FAO) Uzman Komitesi içme suyunda maksimum 3 ppm (65 nM) limitini belirlemiştir (H. M. Zang ve ark. 2016).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Potansiyel toksisitesi ve tehlikeleri göz önüne alındığında nitrit için algılama yöntemlerinin geliştirilmesi sağlık, çevre, gıda kalitesi ve güvenilirliği için çok büyük önem arz etmektedir. Bugüne kadar sulu çözeltilerde nitritin belirlenmesi ve izlenmesi amacıyla; Spektrofotometri, Floresan Spektrofotometresi, Kromatografi, Kapiler Elektroforez, Kemilüminesans, Raman Spektroskopisi, Elektrokimyasal Yöntemler gibi çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında kolorimetrik algılama, basitlik, ucuzluk, düşük algılama sınırı ve yerinde görsel analiz nedeniyle nitrit izleme ve niceleme amacıyla kullanılan en yaygın analitik tekniktir.

Örneğin yüzyıldan daha uzun süredir geliştirilen Griess tahlili nitrit tespitinin dönüm noktasıdır ve bugün bile popülaritesini korumaktadır. Bununla birlikte; bu tahlil düşük hassasiyet, uzun reaksiyon süresi, çok adımlı işlem ve üç farklı reaktifin tepkimesinin gereksinimi gibi bazı sınırlayıcı niteliklere sahiptir.

Son zamanlarda Hou ve ark. Griess tahliline alternatif olarak nitrit tespiti için yeni bir kolorimetrik sensör bildirdi. Çalışmalarında sinyal raportörü olarak fenosafranin boyasının diazotizasyonunu kullanmış ve bu morumsudan maviye görsel bir renk değişimi üretmiştir. Algılama sınırının 0,22 nM olduğu ve optimal tespit süresinin 20 dakika olduğu belirtilmiştir.

Wong ve ark. nitrit iyonlarının kolorimetrik tespiti için bir rutenyum kompleksi tasarlamıştır. Bu kompleks asidik nitrit çözeltisinde üretilen NO ile reaksiyona girmiş ve gözle görülür renk değişimi meydana getirmiştir. Algılama sınırı 0,39 nM ve süresi 1 dakika olarak belirtilmiştir.

Cardoso ve ark. nitrit iyon tahlili için metilen menekşe-3-RAX boyası kullanmışlardır. Diazotizasyon reaksiyonu, nitrit iyonlarının miktarıyla orantılı olarak absorbans yoğunluğunda bir azalmaya neden olmuştur. Hesaplanan tespit sınırı 0,14 nM ve yanıt süresi ise 15 dakikadır.

Lu ve ark. asidik ortamda p-aminobenzoik asit ve kloruglusinolün diazo kenetlenme reaksiyonuna dayalı bir kolorimetrik nitrit tespiti bildirmiştir. Bu algılama tepkimesi 434 nm’de maksimum absorbens gösteren sarı renkli azo-boyası vermiştir. Algılama sınırı 0,52 nM ve süresi ise 24 dakika olarak hesaplanmıştır.

Chen ve ark. nitrit tayini için basit bir kolorimetrik yöntem önermişlerdir. UV ışığı altında 2-amino-6-klorobenzoik asidin kendine bağlanmalı diazotizasyon reaksiyonu ile 0,12 nM algılama sınırına ve uzun yanıt süresine (100 dakikalık) sahip bir siklik azobenzen bileşiği vermiştir.

Ramiah ve ark. ise yeşil bir aza-BODPY türevi vermek için nitritin asidik çözeltide mavi bir aza-BODPY ile reaksiyonuna dayalı alternatif bir kolorimetrik yöntem sağladılar. Bu yöntem için algılama sınırı 0,5 nM ve süresi 5 sn olarak bildirilmiştir.

Griess tahliline alternatif olarak diğer bazı ilginç kolorimetrik yöntemler (altın nanopartiküller, gümüş nano parçacıkları, kuantum noktaları ve karbon noktaları) son zamanlarda bildirilmiş olsa da pratik uygulamalarda yaygın olarak kabul görmemiştir ve bu yoldaki araştırma hattı hala oldukça sınırlı kalmıştır.

2.1. Spektrofotometrik Yöntemler

Nirit ve nitrat tayini için kullanılan en yaygın yöntemlerdir. Basit, ucuz ve analitik stabilitesi yüksektir. Bu yöntemler esas olarak nitritin bazı saptama reaktifleri ile reaksiyonuna (diazolama ve nitrozasyon reaksiyonu) dayanır; reaksiyondan sonra ürünün absorbensı nitrit konsantrasyonu ile orantılıdır. Kendi içinde, Griess tahlili, Nitrozasyon tabanlı ve Katalitik Spektrofotometrik yöntemler olarak incelenir. Ancak bu yöntemler canlı hücre veya organizma üzerinde uygulama yapmaya elverişli değildirler. Ve genellikle düşük hassasiyet ve uzun tahlil süreleri sebebiyle tercih edilebilirlikleri azalmaktadır. Yine de bu yöntem ile geliştirilen kolorimetrik sistemler (test kiti vb.) ile imkanların zayıf olduğu sahalarda yerinde analiz yapabilmek mümkündür. Bu yönüyle ucuz ve etkin çözümler üretme potansiyeli yadsınamaz.

2.2. Kemilüminesans

Basitlik, geniş lineer aralık, düşük maliyet, güvenlik ve kontrol edilebilir emisyon oranı gibi birçok avantaja sahip güçlü bir analitik teknik olarak bilinmektedir. Bu avantajları nedeniyle son yıllarda nitrit tayininde geniş çapta kullanılmıştır. Gaz fazlı kemilüminesans, Luminol kemilüminesans olarak iki başlık altında incelenir. Ancak sahada, yerinde analize uygun bir yöntem değildir.

2.3. Elektrokimyasal Algılama

Elektroanalitik cihazların potansiyelleri ile taşınabilirliği gibi bir dizi cazip seçenek sunmaktadır. Genel olarak nitrit, platin, altın, bakır, elmas, camı karbon gibi oksit elektrotlarında elektroaktiftir. Bununla birlikte çıplak elektrotların uygulanması sınırlıdır. Çünkü elektrotların yüzeyi diğer türler tarafından kolaylıkla zehirlenebilir. Dolayısıyla hassasiyet ve doğruluk azalır.

2.4. Kromatografi (HPLC, İyon)

Mevcut literatür analizi, kromatografinin çoğu dalının nitrit ve nitrat tayini için kullanıldığını göstermektedir. Doğrudan numune analizi, çoğu HPLC ve iyon kromatografi teknikleri ile elde edilebilir. Ancak gaz kromatografisi hedef türün ölçülebilir bir varlığa kimyasal modifikasyonunu gerektirir. Bu yaklaşımın en büyük dezavantajları; kimyasal modifikasyonların yanı sıra maliyet ve karmaşıklığı ile ilgilidir. Aynı zamanda cihaz kullanımı yapacak bireylerin yetenekleri de önemli yer tutmaktadır.

2.5. Kapiler(kılcal) Elektroforez

Kılcal elektroforez, katyonik, anyonik ve nötr bileşikler analiz etmek için kullanılabilen çok yönlü bir tekniktir. Yüksek ayırma verimliliği, kısa çalışma süresi, küçük enjeksiyon hacimleri, düşük miktarda numune ve çok çeşitli anyonların eş zamanlı analizi gibi diğer analitik tekniklere göre çeşitli avantajlara sahiptir. Son yıllarda farklı örneklerde nitrit tayinleri, doğrudan UV tespiti kullanılarak kılcal elektroforez ve kılcal bölge elektroforezi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nitritin kılcal elektroforez analizinde en sık kullanılan

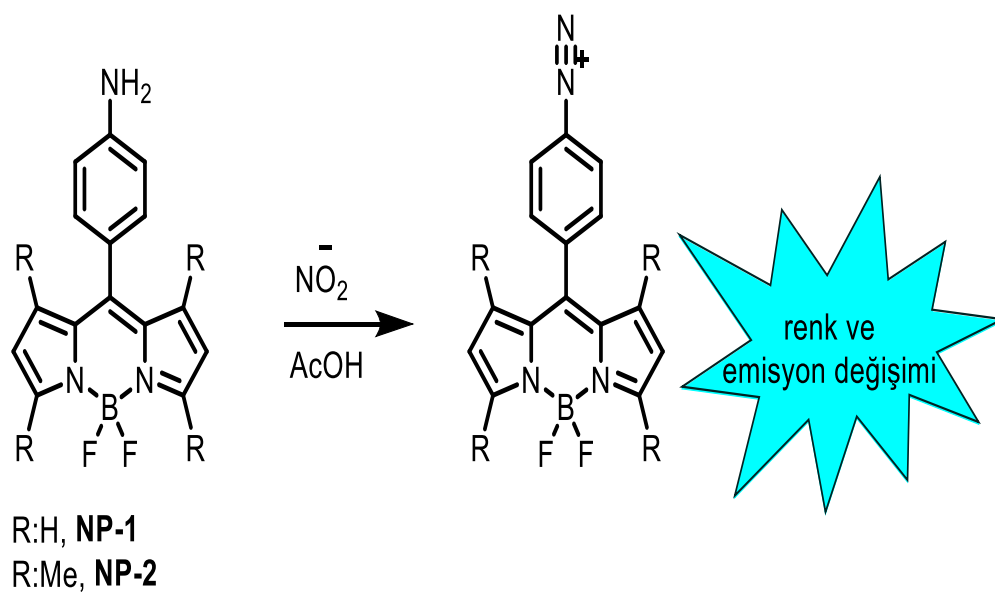
tespit yöntemi UV-vis absorbans olmasına rağmen; florometrik ve elektrokimyasal kılcal elektroforez yöntemleri de bildirilmiştir.

2.6. Spektroflorimetrik Yöntemler

Spektroflorimetri, yüksek hassasiyeti, yüksek seçiciliği, çok düşük tespit limitleri ve kolay deney protokolleri nedeni ile nitrit tespiti için daha yaygın olarak kullanım görmeye başlamıştır. Floresan prob lar nitrit ile reaksiyona girdiğinde floresan ışık yoğunluğunda değişiklikler meydana gelir. Nitrit tayini için birçok floresan prob, nitrozasyon/diazotizasyona tabi tutulmak üzere nitrit iyonunun kimyasal özgünlüğünden yararlanılarak yapılmıştır. Nitrozasyon bazlı, diazotizasyon bazlı ve komşu aril diaminlere dayalı spektroflorimetrik yöntemler olarak incelenebilir (Yılmaz, 2021). Spektroskopik yöntemlerin eksik/zayıf yanlarını ortadan kaldırmaya en uygun analitik yöntem olduğu söylenebilir. Bilhassa canlı ortamlarda kullanıma uygun olması ve yüksek hassasiyet göstermesi nedeniyle UV-vis tabanlı spektrofotometrik analizlere tamamlayıcı nitelik gösterirler.

2.7. Tasarımımız

Tüm bu bahisle, biz de bu tez çalışmamız kapsamında hem renk değişimi prensibi ile spektrofotometrik analizlerde hem de kolorimetrik test kitlerinde potansiyel kullanım bulabilmesi yönüyle boyarmadde tabanlı sistemleri benimsiyoruz. Buna ek olarak, bu boyarmaddenin floresans özellikli bir boya olması durumunda kolorimetrik cevaba ilaveten florometrik analizlere de olanak tanınması mümkündür. Bu bağlamda, araştırma grubumuzun Bordipirometen (BODIPY) bazlı boyalar ile edindiği geniş çaplı geçmiş tecrübelerimiz ışığında (Işık vd., 2013; Işık vd., 2019) aşağıda yapılarını sunduğumuz iki adet 8-anilinoBODIPY boyasının nitrit varlığında hem kolorimetrik hem de florometrik cevaplar üretebileceği düşünülmüştür. Şöyle ki, nitrit varlığında ve yeter düzeyde asitli ortamda boyanın mezo konumlarında bulunan anilin birimlerinin hızlıca diazotizasyona uğrayarak yarı-kararlı (ing. *metastable*) ilgili diazonyum tuzunu oluşturması beklenmektedir. Beklenen diazonyum bileşiklerinin mutlak surette problemlerin absorbanlarında kaymaya ve floresans emisyon şiddetlerinde değişikliğe neden olacağına kuşkumuz yoktur.



Şekil 2.1. **NP-1** ve **NP-2**'in nitrit ile diazotizasyon tepkimesi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışmaları kapsamında **NP-1** ve **NP-2** olarak kodlanan 2 (iki) adet 8-anilinoBODIPY boyarmaddesinin tasarım, sentez ve yapısal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu iki probun sulu ortamdaki spektroskopik özellikleri (UV-vis ve floresans) incelenmiş ve sulu ortamlarda nitrit iyonunun algılanmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır.

3.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılacak tüm fine kimyasallar ve çözücüler ticari olarak temin edilmiş ve aksi belirtilmedikçe daha fazla saflaştırılmadan kullanılmıştır. 1D NMR spektrumları, çözücü olarak CDCl_3 kullanılarak bir 400 veya 600 MHz Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektrometre üzerinde kaydedilmiştir. HRMS verileri, bir Agilent Technologies 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS üzerinde elde edilmiştir. UV-Vis Absorpsiyon spektrumları, bir Shimadzu UV-3101PC UV-VIS-NIR spektrofotometre üzerinde veya muadili bir cihazda alınmıştır. Flaş kolon kromatografisi (FCC) saflaştırmaları için flaş sınıfı silika jel (SilicaFlash Irregular Silica Gels, F60, 40–63 μm , 60 Å) kullanılmıştır. Sentetik reaksiyonlar, önceden kaplanmış silika jel plakaları (Merck Silica Gel PF-254) kullanılarak, el tipi bir UV-Vis lambasıyla görselleştirilen ince tabaka kromatografisiyle (TLC) izlenmiştir. Tüm organik çözücüler, susuz Na_2SO_4 veya MgSO_4 üzerinde kurutulmuş ve FCC'ye tabi tutulmadan önce döner buharlaştırıcı (rotary evaporatör) kullanılarak konsantre edilmiştir. Tüm absorpsiyon ve emisyon spektrum kayıtları için 1.0 cm yol uzunluğuna sahip kuvars hücreler kullanılmıştır. Sulu tamponların asitlik düzeyleri bir dijital pH-metre yardımıyla belirlenmiştir.

3.2. Sentetik Yöntemler

Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen 2 (iki) adet 8-(4-anilino) BODIPY boyarmaddesine (**NP-1** ve **NP-2**) ait sentez çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin sentezine ait prosedürler aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.2.1. 8-(4-Nitrophenyl) BODIPY (1 ve 2) bileşiklerinin sentezi için yöntemler

BODIPY 1 için Kıprik vd. (2022), BODIPY 2 için ise Imahori vd. (2001) çalışmaları takip edilmiştir.

BODIPY 1 sentezi

Pirol (5.7 mL, 25 eşdeğer) ve 4-nitrobenzaldehit (0.50 g, 1 eşdeğer) argon atmosferi altında, oda sıcaklığında 5 dakika karıştırıldı. Karışıma bir damla triflorasetik asit eklendikten sonra, aynı koşullarda 5 dakika daha karıştırılmaya devam edildi. Reaksiyon karışımına 50 mL su eklendi ve ardından diklormetan (2×50 mL) ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik faz, su ile yıkanıp Na_2SO_4 ile kurutulduktan sonra rotary evaporatörde uzaklaştırıldı. Eldeki ham ürün, kısa bir silika jel kolonundan (DCM ile) geçirilerek saflaştırıldı ve düşük basınç altında kurutularak 577 mg sarımsı-yeşil katı ürün elde edildi. Elde edilen dipirometan ürün (**1a**), 25 mL diklormetan içinde çözülüp, üzerine 1.0 eşdeğer DDQ (490 mg) üç küçük porsiyon halinde eklendi. Karışım oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı. Sürenin sonunda, karışım sıfır dereceye soğutuldu ve üzerine 10 mL TEA damla damla eklendi. Oda sıcaklığında 15 dakika karıştırıldıktan sonra, 10 mL BF_3 eter kompleksi yine damla damla eklendi. Çözelti oda sıcaklığında 2 saat daha karıştırıldıktan sonra karışıma 25 mL DCM ve 100 mL su eklendi ve gece boyunca şiddetli bir şekilde karıştırıldı. Ayrılan DCM fazı, susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra, 1:1 DCM:*n*-hegzan karışımı elüantı kullanılarak silika jel kolonu ile saflaştırıldı.

BODIPY 2 sentezi

Argon gazı ile havası giderilmiş diklormetan (20 mL) içinde çözünmüş 2,4-dimetilpirol (0.227 mL, 2.2 eşdeğer) ve 4-nitrobenzaldehit (0.151 g, 1 eşdeğer), oda sıcaklığında karıştırıldı. Bu karışıma bir damla triflorasetik asit eklendikten sonra, aynı koşullarda 2 saat daha karıştırma işlemine devam edildi. Daha sonra bu karışım üzerine 1.0 eşdeğer DDQ (227 mg, 1 eşdeğer) üç küçük porsiyon halinde eklendi. Karışım oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı. Sürenin sonunda, karışım sıfır dereceye soğutuldu ve üzerine 4 mL TEA damla damla eklendi. Oda sıcaklığında 15 dakika karıştırıldıktan sonra, 4 mL BF_3 eter kompleksi yine damla damla eklendi. Çözelti oda sıcaklığında 2 saat daha karıştırıldıktan sonra

karışıma 25 mL DCM ve 100 mL su eklendi ve gece boyunca şiddetli bir şekilde karıştırıldı. Ayrılan DCM fazı, susuz sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra, 1:1 DCM:*n*-hegzan karışımı elüantı kullanılarak silika jel kolonu ile saflaştırıldı.

3.2.2. 8-(4-Anilino) BODIPY (NP-1 ve NP-2) bileşiklerinin sentezi için genel yöntem

Deneyde kullanılan tüm çözücüler, önce yarım saat boyunca argon gazı geçirilerek havasız hale getirildi. BODIPY bileşiği **1** veya **2** (**NP-1** için: 1.0 mmol, 313 mg; **NP-2** için: 0.623 mmol, 230 mg), metanol (**NP-1** için: 10 mL; **NP-2** için: 7 mL) içinde çözüldü. Ardından bu çözeltiye demir tozu (**NP-1** için: 15.0 mmol, 838 mg; **NP-2** için: 9.35 mmol 522 mg) ve distile su (**NP-1** için: 6 mL; **NP-2** için: 4 mL) eklendi. Bu heterojen karışım 86 °C'lik bir yağ banyosunda reflaks şartlarında ısıtıldı. Bu esnada, karışıma 0.6 M hidroklorik asit/metanol çözeltisi (**NP-1** için: 4 mL; **NP-2** için: 3 mL) yavaşça damla damla eklendi. Karışım, TLC analiziyle başlangıç malzemesinin tamamen tükendiği belirlenene kadar 2 saat boyunca reflaks altında karıştırıldı. Daha sonra oda sıcaklığına soğutularak süzüldü ve düşük basınçta yoğunlaştırıldı. Hedef 8-(4-anilino) BODIPY bileşikler (**NP-1**: 22,4 mg, %7,9 verim; **NP-2**: 160 mg, %75,7 verim) silica-gel hızlı kolon kromatografisi (silika jel, diklormetan) ile saflaştırıldı ve bileşikler kırmızı katı olarak elde edildi.

3.2.2.1. NP-1 Bileşiğinin Yapısal Karakterizasyonu

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (s, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.00 (d, *J* = 4.0 Hz, 2H), 6.74 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.52 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H), 4.12 (s, 2H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 149.8, 148.2, 142.4, 134.6, 132.9, 131.0, 123.8, 117.9, 114.3.

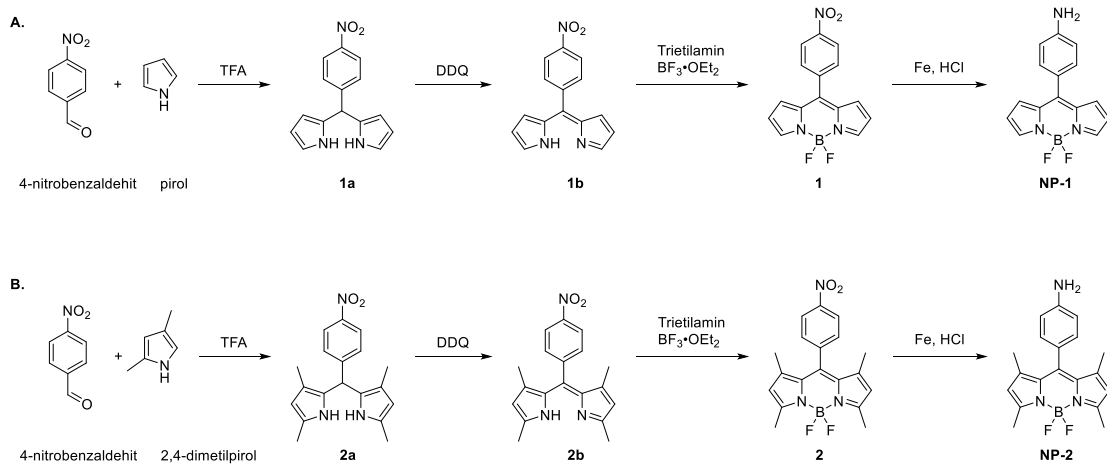
3.2.2.2. NP-2 Bileşiğinin Yapısal Karakterizasyonu

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.75 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.95 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 2.53 (s, 6H), 1.48 (s, 6H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ 154.9, 147.1, 143.2, 142.7, 132.0, 128.9, 124.6, 120.9, 115.4, 14.6, 14.5.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmaları kapsamında hedeflenen **NP-1** ve **NP-2** kodlu nitrit problemlerinin sentezi için aşağıda, Şekil 4.1’de verilen sentetik rotalar takip edilmiştir.



Şekil 4.1. **NP-1** ve **NP-2**’in sentez rotası

NP-1 ve **NP-2** bileşikler, BODIPY kromofor biriminin 1,3,5,7-pozisyonlarında taşıdığı süstitüentler bakımından farklılık göstermektedir. **NP-1** bileşiğinde bu pozisyonlarda hidrojen atomları bulunurken, **NP-2** bileşiğinde ise metil grupları yer almaktadır. Özellikle 5- ve 7-konumları, nitrit probu tasarımıımızın vereceği yanıt açısından kritik öneme sahiptir. **NP-1** bileşiğinde, 5- ve 7-pozisyonlarında H-süstitüsyonu olduğu için, kromofor birimi ile 8-pozisyonuna bağlı aromatik halka arasında elektronik eşleşme beklenir. Buna karşılık, **NP-2** bileşiğinde 5- ve 7-pozisyonlarında Me-süstitüsyonu bulunması, kromofor birimi ile 8-pozisyonuna bağlı aromatik halka arasında çok daha düşük elektronik eşleşme olmasını sağlar. **NP-2** bileşiğinde görülen bu farklılık, sterik engellemenin etkisiyle ortaya çıkar ve hem floresans emisyon değişimi hem de kolorimetrik sonuçlar bakımından **NP-1** ile belirgin bir fark yaratır. Bu farkın temel nedeni, **NP-2** molekülünde elektronik ayrıklığın varlığıdır.

4.1. NP-1'in (Nitrit Probu 1) Sentez Çalışmaları

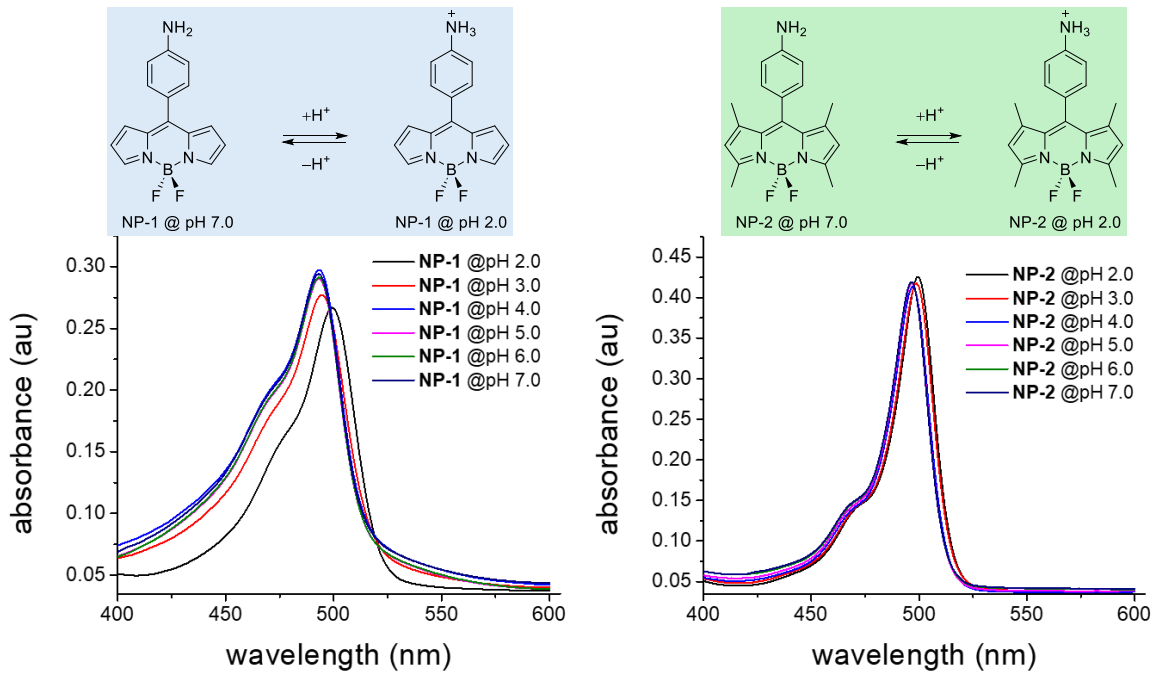
Bu doğrultuda ilk olarak Kırpık vd. (2022) tarafından yayımlanan prosedürler takip edilerek önce **1** numaralı 8-(4-nitrofenil) BODIPY bileşik sentezlenmiştir. Bu amaçla ticari yoldan elde edilen 4-nitrobenzaldehit ile çıplak pirol TFA (trifloroasetik asit) katalizörlüğünde kondanse edilerek **1a** kodlu dipirometan bileşiği elde edilmiştir. Bu sentezde pirol bileşiği hem tepken hem de çözücü olarak kullanılmıştır. Daha sonra bu kondansasyon ürünü bir eşdeğer DDQ (2,3-diklor-5,6-disiyano-1,4-benzokinon) oksidantı yardımıyla ilgili dipirometan bileşiğine (**1b**) çevrildi. Buz banyosu yardımıyla sıfır dereceye soğutulmuş bu dipirometan bileşiğine (**1b**) aşırı miktarda trietilamin (TEA) ilavesine müteakip bortriflorür eter kompleksinin eklenmesiyle ara hedef olan 8-(4-nitrofenil) BODIPY bileşiği (**1**) sentezlenmiş oldu. Son aşama ise bu bileşiğin nitro-grubunun aşırı eklenmiş demir tozu aracılığıyla asidik ortamda indirgemesine dayanır (Sun vd. 2020). **NP-1** bileşiğinin yapısal karakterizasyonu Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR) analizleri ile başarılmıştır.

4.2. NP-2'nin (Nitrit Probu 2) Sentez Çalışmaları

Benzer yaklaşımla, **NP-2** kodlu nitrit probunun sentezi için yine yukarıda Şekil 4.1.'de verilen sentetik rota takip edilecektir. Bu istikamette, Algı vd. (2017) ve Imahori vd. (2001) çalışmalarından faydalanılmıştır. Bu amaçla bir eşdeğer 4-nitrobenzaldehit ile 2.2 eşdeğer 2,4-dimetilpirol ticari bileşikleri havası argon gazı ile giderilmiş diklormetan çözücüsünde TFA katalizörlüğünde kondanse edilerek **2a** kodlu dipirometan bileşiği elde edilmiştir. Daha sonra, **2a** bileşiği önce bir eşdeğer DDQ ile oksitlendikten sonra karışım buz banyosu yardımıyla soğutulur. Ortamın bazik olması için aşırı miktarlarda eklenen trietil amin damla damla eklendikten 15 dk. sonra bortriflorür eteratı eklenmesiyle ara hedef olan tetrametil sübtitüe 8-(4-nitrofenil) BODIPY bileşiği (**2**) sentezlenmiş oldu. Son aşamada bu bileşik demir/HCl yardımıyla indirgenerek nitro-grubunun amino-grubuna dönüşümü sağlanmıştır (Sun vd. 2020). Böylece sentezlenmiş olan **NP-2** bileşiğinin yapısal karakterizasyonu döteryumlu kloroform (CDCl_3) içinde alınmış NMR spektrumlarının (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR) analizi ile sağlanmıştır.

4.3. UV-vis ve Floresans Spektroskopisi Karakterizasyonları

Bu tez çalışmaları kapsamında, **NP-1** ve **NP-2** kodlu 8-(4-anilino) BODIPY bileşiklerinin sulu tamponlarda nitrite duyarlılığı araştırılmıştır. Çalışmalar kapsamında, her bir probun elektronik absorpsiyon (UV-vis) ölçümleri gerçekleştirilmiş, 4,0–7,0 pH aralığında 1,0 birimlik değişimlerle asetat ve tuzlu fosfat tamponu kullanılarak kapsamlı bir pH taraması yapılmıştır. pH 3,0 tamponu için sitrat tamponundan yararlanılmıştır. pH 2,0 içinse 0,01 M HCl çözeltisi kullanılmıştır. Bu ölçümler sonucunda, her iki probun da pH bağıllığı net bir şekilde ortaya konulmuş ve bileşiklerin pH duyarlılık profilleri detaylı bir şekilde analiz edilmiştir. Bileşiklerin UV-vis spektrumları Şekil 4.2’de görülmektedir.



Şekil 4.2. **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin UV-vis spektroskopisi ile pH duyarlılığı

Şekil 4.2’de gösterilen **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin UV-vis spektrumlarına ait grafikleri, 4,0–7,0 pH aralığında gerçekleştirilen ölçümleri göstermektedir. Bu ölçümlerin saf sulu ortamlarda gerçekleştirilmesi, bileşiklerin yüksek pH’larda suda çözünürlüğünü yitirmesi nedeniyle mümkün olmamıştır. Bu sebeple, tüm ölçümler asidik su ve asetonitril karışımı (%90 su : %10 asetonitril, hacimce) ortamında gerçekleştirilmiştir. Grafiklerde, her bir pH biriminde **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin UV-vis absorpsiyon spektrumlarındaki değişimler açıkça izlenmiş ve bu değişimler her iki probun pH’ya bağlı davranışını ortaya koymuştur.

Her iki boya da tipik BODIPY absorpsiyon profiline sahip olup, yaklaşık 490-500 nm bant aralığında düşük enerjili $S_0 \rightarrow S_1$ geçiş bantlarını göstermektedir. Daha ayrıntılı ifade etmek gerekirse, bu boyalar, temel elektronik durumdan (S_0) birinci uyarılmış duruma (S_1) geçişe ait baskın absorpsiyon bandına ek olarak, bu bandın hemen üzerinde, daha yüksek enerjili bir soğurma bandı da sergilemektedir ($S_0 \rightarrow S_2$). **NP-1** bileşiği, 5- ve 7-konumlarındaki H-sübstitüsyonunun etkisiyle geniş (yayvan) bir absorpsiyon bant aralığı sergilemektedir. Bu durum, molekülün elektronik yapısında daha fazla delokalizasyon olmasıyla ilişkilidir. Buna karşın, **NP-2** bileşiği, 5- ve 7-konumlarındaki metil sübstitüsyonlarının neden olduğu sterik etkiler nedeniyle daha keskin ve belirgin bir absorbans profili göstermektedir. Metil gruplarının oluşturduğu sterik engel, kromofor birimini 8-pozisyonuna bağlı aril grubundan izole ederek elektronik etkileşimlerini daha sınırlı hale getirmektedir. Bu farklılığın, her iki bileşiğin pH duyarlılığı ve nitrite verecekleri yanıt üzerinde de önemli bir rol oynaması beklenmektedir. Aşağıda Tablo 4.1’de **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin her bir pH değerinde sergiledikleri absorbans maksimum değerleri gösterilmektedir.

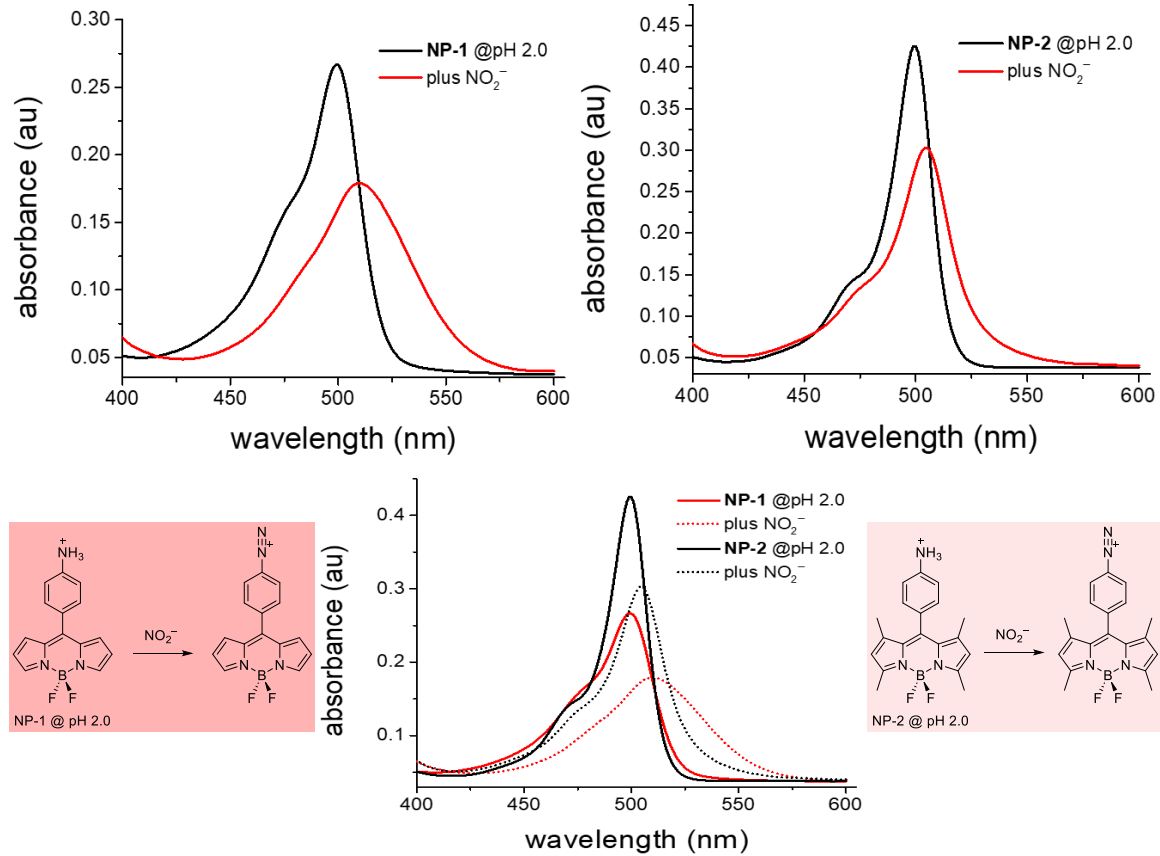
Tablo 4.1. **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin pH duyarlılığı (UV-vis spektroskopisi)

pH	λ_{max} (NP-1)	λ_{max} (NP-2)
7.0	493 nm	496 nm
6.0	493 nm	496 nm
5.0	493 nm	497 nm
4.0	493 nm	497 nm
3.0	495 nm	499 nm
2.0*	499 nm (510 nm)*	499 nm (505 nm)*

*pH 2,0 ölçümlerine aşırı miktarda sodyum nitrit ilavesinden 1 dk. sonra alınmış spektrum ölçümleridir. Bu ölçümler asidik su: asetonitril (hacmen 9:1 oranında) ortamında alınmıştır.

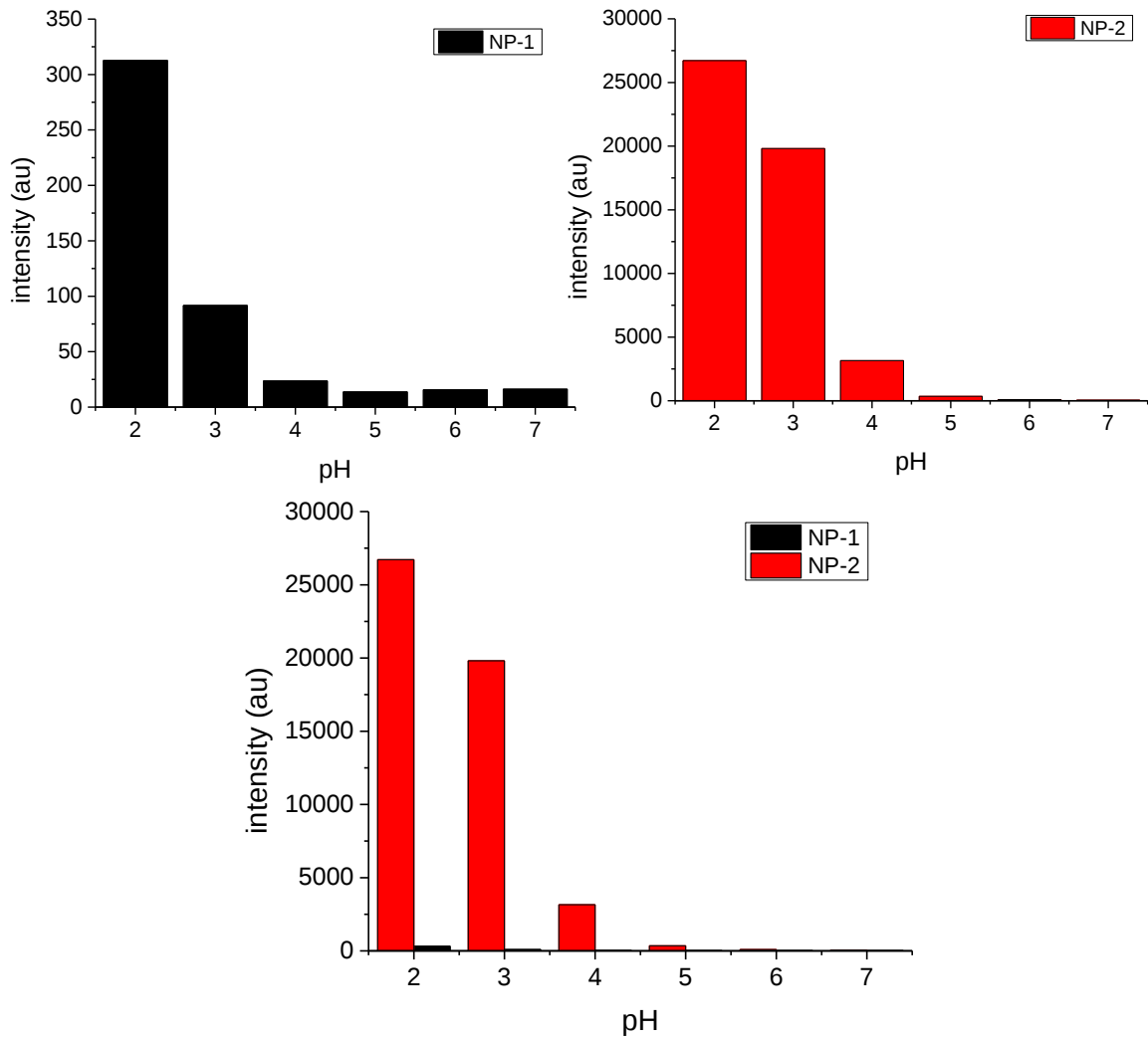
Daha fazla elektronik delokalizasyon göstermesi beklenen **NP-1** pH marjinleri 493nm ile 499 nm arasında iken **NP-2** pH marjinleri beklendiği gibi daha dar bir aralıkta, 496 nm ile 499 nm aralığında gerçekleşir. Buna ek olarak, pH 2.0 çözeltilerine aşırı miktarda sodyum nitrit ilave edildikten 1 dk. sonra alınan ölçümlerde, **NP-1** içeren numune, 499 nm’den 510 nm’ye (kırmızıya) kayarken **NP-2** içeren numunede bu kayma yalnızca 6nm ile sınırlı kalmaktadır (499 nm’den 505 nm’ye). Bu değişimlerin izlendiği spektrumlar aşağıda Şekil

4.3'te verilmiştir. Bu çalışmalar sayesinde **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin pH'ya ve nitrite duyarlılığı UV-vis spektrofotometrik yöntemi ile karakterize edilmiştir.



Şekil 2.3. **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin pH 2.0'da nitrite duyarlılığının UV-vis spektrometri yöntemi ile karakterizasyonu

Şekil 4.4'te verilen 2,0–7,0 pH aralığındaki emisyon spektrumlarından da görüldüğü üzere, **NP-1**'in sulu çözeltisinde pH'nın 7,0'dan 2,0'a düşürülmesiyle yaklaşık 19 katlık bir emisyon artışı gözlemlenmiştir. Buna karşılık, aynı pH değişimi **NP-2**'nin sulu çözeltisinde yaklaşık 536 katlık bir emisyon artışıyla sonuçlanmıştır. Başka bir deyişle, artan asidik koşullar altında **NP-2**'nin floresans emisyonundaki artış, **NP-1**'e kıyasla yaklaşık 86 kat daha yüksek bir seviyede gerçekleşmiştir. Bu bulgular, pH'nın 7,0'dan 2,0'a düşürülmesiyle **NP-2**'de güçlü bir floresans geri kazanımı meydana gelirken, **NP-1**'in emisyonundaki zayıf artışın, bu bileşikte yer alan BODIPY halkasının 8-konumundaki 4-anilino grubunun *mezo*-ekseninde gerçekleştirdiği rotasyonel hareketler sonucu oluşan nanradyatif rölaksasyon süreçleriyle uyarılmış hal (S_1) enerjisinin kaybına işaret ettiğini açıkça ortaya koymaktadır.

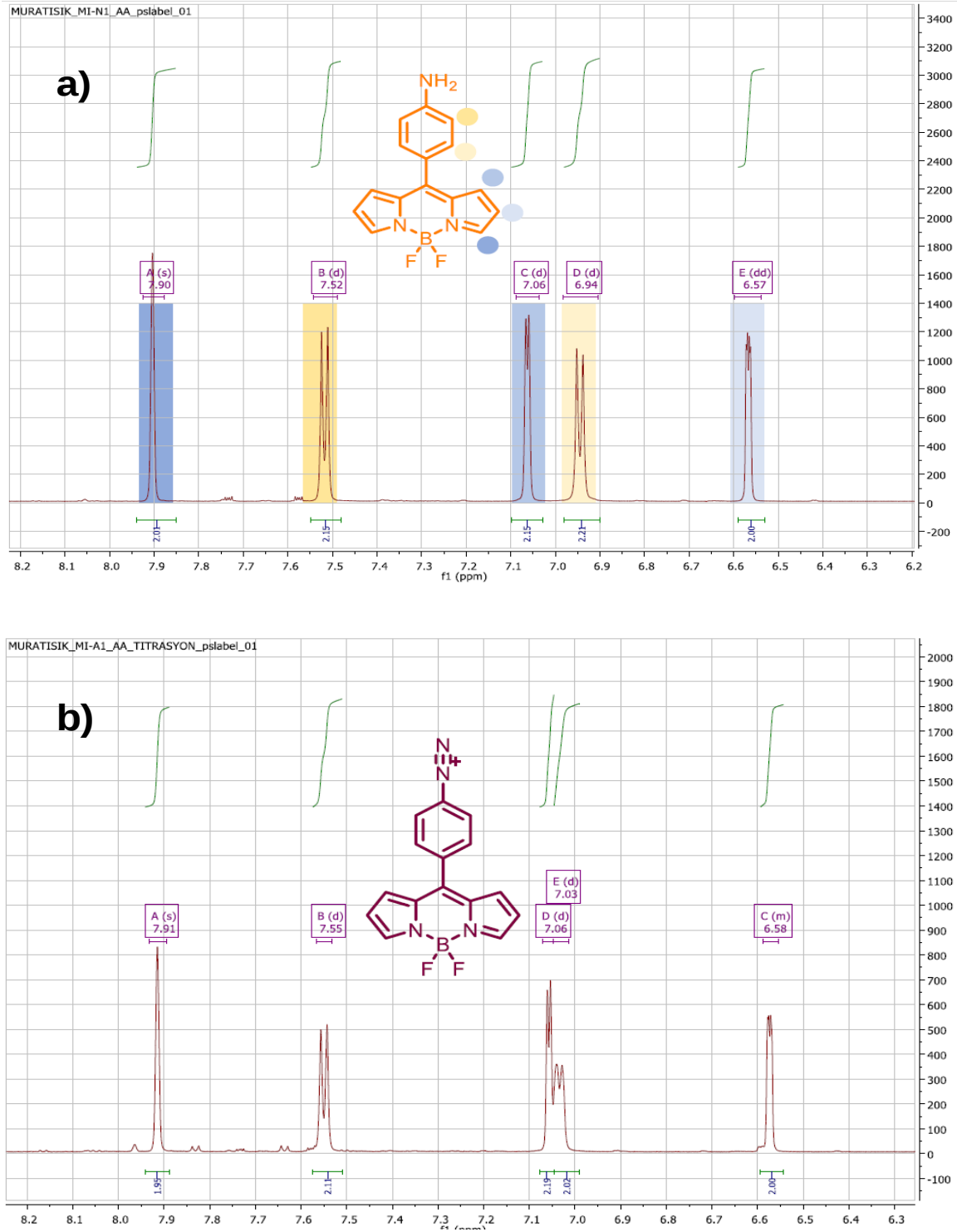


Şekil 4.4. **NP-1** ve **NP-2** bileşiklerinin floresans emisyonlarına pH'nın etkisi

4.4. NMR Titrasyon Deneyi

NP-1 ve **NP-2** problemlerinin her ikisinin de nitrit ile tepkimesinin, problemlerde nitrit tanıyıcı grup olarak bulunan anilino birimlerinin diazotizasyonu yoluyla gerçekleşmesi beklenmektedir. Problemlerin nitrit ile etkileşimi hakkında daha ayrıntılı bilgi elde etmek amacıyla, döteryumlu asetik asit (d_4 -asetik asit) içinde öncelikle **NP-1**'in yüksek çözünürlüklü NMR spektrumu (600 MHz) alınmış (Şekil 4.5.a); ardından bu çözelti 2,0 eşdeğer NaNO_2 içeren bir cam vialle aktarılmış ve çözelti renginin kırmızımsı kahve renginden koyu vişne rengine dönüştüğü gözlenmiştir. Yaklaşık 1 dakika sonra alınan NMR spektrumu aşağıda Şekil 4.5. b)' de verilmiştir. Her iki ^1H NMR spektrumu karşılaştırmalı olarak incelendiğinde, BODIPY iskeleti üzerinde yer aldığı düşünülen (mavi ile vurgulanan) protonların nitrit ilavesi öncesinde ve sonrasında kimyasal kaymalarında anlamlı bir değişiklik olmadığı, buna karşılık anilino biriminde bulunan protonların yüksek alandan (6.94 ppm, dublet; 7.52 ppm, dublet) düşük alana (7.03 ppm, dublet; 7.55 ppm, dublet) doğru sırasıyla 0.09

ppm ve 0,02 ppm'lik kimyasal kaymalar sergilediği belirlenmiştir. **NP-1**'in anilino biriminde yer alan aromatik C–H protonlarının nitrit ilavesi sonrası aşağı alana kayması, protonlanmış formda



Şekil 4.5. a) **NP-1** bileşiğinin d_4 -asetik asit içinde alınmış NMR spektrumu (600 MHz, 25 °C), b) **NP-1** bileşiğinin d_4 -asetik asit çözeltisine 2 eşdeğer NaNO_2 eklendikten 1 dakika sonra alınan NMR spektrumu (600 MHz, 25 °C)

bulunan anilin grubunun ($\text{Ar} - \text{NH}_3^+$) nitrit ilavesiyle birlikte diazonyum grubuna ($\text{Ar} - \text{N}_2^+$) dönüştüğünü desteklemektedir. Gözlemlenen bu kimyasal kaymanın, amonyum grubuna kıyasla daha elektron çekici özellik gösteren diazonyum grubunun oluşturduğu deshielding etkisinden kaynaklandığı değerlendirilmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmaları kapsamında, iki adet 8-(4-anilino) BODIPY boyarmaddesi (**NP-1** ve **NP-2**) başarıyla sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin nitrit probu olarak değerlendirilebilmesi amacıyla, sulu ortamlarda çözünürlüklerini artırmak ve asidik özelliklerini korumak adına minimal miktarda (%10) asetonitril ko-çözücüsü kullanılarak pH'ya duyarlılıkları belirlenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre, BODIPY kromoforunun 8-pozisyonuna bağlı 4-anilino grubunun kromofor birim ile daha yüksek elektronik delokalizasyon sağladığı düşünülen **NP-1** bileşiği, artan ortam asitliğiyle paralel olarak görece yüksek bir kırmızıya kayma (6 nm) göstermiştir. Buna karşın, **NP-2** bileşiğinde bu kayma daha minimal (3 nm) olarak gözlenmiştir. Ayrıca, pH 2,0 ortamına aşırı miktarda nitrit ilavesiyle kırmızıya ani bir renk kayması meydana gelmiş, ancak bu kayma, sterik etkilerin elektronik eşleşmeyi sınırladığı **NP-2** bileşiğinde daha sınırlı kalmıştır. Her iki bileşiğin de nitrit ile diazotize olduğu değerlendirilmiş ve verdikleri hızlı yanıt nedeniyle suda çalışabilen etkili nitrit problemleri olarak değerlendirilmelerinin mümkün olduğu değerlendirilmiştir.

Floresans spektroskopisi ile detaylı karakterizasyon çalışmaları henüz tamamlanmamıştır. Ancak, el tipi UV lambası altında yapılan gözlemlerde, **NP-1** içeren pH 2,0 çözeltisinin neredeyse hiç ışımaya göstermediği, buna karşın **NP-2**'nin başlangıçta yüksek bir floresans emisyon sergilediği görülmüştür. Her iki bileşiğin de pH 2,0 çözeltisine aşırı miktarda sodyum nitrit eklenmesi sonucunda floresans emisyonlarının ani bir şekilde kaybolduğu tespit edilmiştir. Bu etki, özellikle **NP-2** içeren çözeltelerde daha belirgin olmuştur.

Bu sonuçlar, **NP-2**'nin nitrit iyonu için etkili bir turn-off floresans probu potansiyeline sahip olduğunu gösterirken, **NP-1**'in kolorimetrik veya kromojenik bir prob olarak daha uygun bir aday olduğunu düşündürmektedir. Burada önerilen prob tasarımının, farklı analitlerin algılanması amacıyla geliştirilerek pek çok özgün ve çok yönlü prob tasarımına ilham olacağı umulmaktadır.

KAYNAKLAR

Adarsh, N., Krishnan, M. S., and Ramaiah, D. (2014). Sensitive Naked Eye Detection of Hydrogen Sulfide and Nitric Oxide by Aza-BODIPY Dyes in Aqueous Medium. *Analytical Chemistry*, 86, 9335-9342.

Adarsh, N., Shanmugasundaram, M., and Ramaiah, D. (2013). Efficient Reaction Based Colorimetric Probe for Sensitive Detection, Quantification, and On-Site Analysis of Nitrite Ions in Natural Water Resources. *Analytical Chemistry*, 85, 10008-10012.

Addiscott, T. M. (2005). Nitrate, Agriculture and the Environment. CABI Publishing. AOAC Official Method of Analysis. 2005. Nitrates and Nitrites in Meat. AOAC Official Method, 935, 48.

Ashwort, I. W., Dirat, O., Teasdale, A., and Whiting M. (2020). Potential for the Formation of N-Nitrosamines during the Manufacture of Active Pharmaceutical Ingredients: An Assessment of the Risk Posed by Trace Nitrite in Water. *Organic Process Research and Development*, 24, 1629-1646.

Atalar, T., Cihaner, A., and Algi, F. (2009). The synthesis, characterization and energy transfer efficiency of a dithienylpyrrole and BODIPY Based Donor-Acceptor System. *Turk J. Chem.* 33, 313-319.

Baumann, M. and Näf, K. (2024). Quantification of Nitrite in Excipients and Chemicals: A Versatile and Highly Sensitive Method Using Headspace Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry. *Organic Process Research and Development*, 28, 3217-3228.

Beard, J. C., and Swager, T. M. (2021). An Organic Chemist's Guide to N-Nitrosamines: Their Structure, Reactivity, and Role as Contaminants. *The Journal of Organic Chemistry*, 86, 2037-2057.

Bryan, N., and Ivy, J. (2015). Inorganic nitrite and nitrate: evidence to support consideration as dietary nutrients. *Nutr. Res.*, 35, 643-654.

Cihaner, A. and Algi, F. (2009), Synthesis and properties of 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene (BODIPY)-based conducting copolymers. *Reactive & Functional Polymers*, 69, 62-67.

Dağcı, K. and Alanyalıoğlu, M. (2016). Preparation of Free-Standing and Flexible Graphene/Ag Nanoparticles/Poly(pyronin Y) Hibrid Paper Electrode for Amperometric Determination of Nitrite. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 8, 2713-2722.

Dai, Y. X., Li, Y. X., Zhang, X. J., Marks, R. S., Cosnier, S. and Shan, D. (2024). Micelle-Assisted Confined Coordination Spaces for Benzimidazole: Enhanced Electrochemiluminescence for Nitrite Determination. *ACS Sensors*, 9, 337-343.

Deniz Yılmaz, M. (2021). A novel ratiometric and colorimetric probe for rapid and ultrasensitive detection of nitrite in water based on an Acenaphtho(1,2-d)imidazole derivative. *Analytica Chimica Acta*, 1166, 338597.

Dong, J., Yang, P., Korshin, G. V., and Lu, J. (2023). Bromide Catalyzes the Transformation of Nitrite by Sulfate Radical Oxidation, *ACS EST Water*, 3, 3105-3112.

Dudley, N. (1990). *Nitrates: The threat to Food and Water*. Green Print. London. Dux JP. 1990. *Handbook of Quality Assurance for the Analytical Chemistry Laboratory*, Van Nostrand Reinhold. 2nd ed.

Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. Washington (DC): World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research; p 517.

Fox, G. N., Ramakrishnan, K., and Scheid, D. C. (2005). Sensitivity and Specificity of Urinary Nitrite for UTIs/IN REPLY. *American Family Physician*, 72(11), 2180-2182.

Inmaculada Ortiz-Gomez, Mariano Ortega-Muñoz, Alfonso Salinas-Castillo, José Antonio Álvarez-Bermejo, Maria Ariza-Avidad, Ignacio de Orbe-Payá, Francisco Santoyo-Gonzalez and Luis Fermin Capitan-Vallvey, (2016). Tetrazine-based chemistry for nitrite determination in a paper microfluidic device. *Talanta*, 160, 721-728.

Işık M., Turan I. S., and Datar S. (2019). Development of a water-soluble 3-formylBODIPY dye for fluorogenic sensing and cell imaging of sulfur dioxide derivatives. *Tetrahedron Lett.* 60, 1421–1425.

Isik, M., Ozdemir, T., Turan, I. S., Kolemen, S., and Akkaya, E. U. (2013). Chromogenic and Fluorogenic Sensing of Biological Thiols in Aqueous Solutions Using Bodipy-Based Reagents, *Org. Lett.* 15, 216–219.

Ivanov, V. M. (2004). The 125th Anniversary of the Griess Reagent. *History of Analytical Chemistry*, 59(10), 1002-1005.

JCGM (Joint Committee for Guides in Metrology). (2012). *International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology*. JCGM 100-2012. Jo, Junyong, (2023). Rapid-Response Nitrite Probes: Intramolecular Griess Reaction for Nitrite Detection at Picogram Level. *Organic Process Research and Development*, 27, 1820-1826.

Jiyoung, J. (2024). Reactivity-based detection of nitrite ion: Rapid colorimetric and fluorometric response down to nM level. *Tetrahedron Letters*, 143, 155114.

Kırpık, H., Erkan, S., and Köse, M. (2022). A new 3-substituted BODIPY dye: Synthesis, crystal structure, photophysical, non-linear optical and OLED properties. *Journal of Molecular Structure*, 1252, 132090.

Kuimova, M. K., Yahioglu, G., Levitt, J. A., and Suhling, K. (2008). Molecular Rotor Measures Viscosity of Live Cells via Fluorescence Lifetime Imaging. *Journal of The American Chemical Society*, 130, 6672-6673.

- Kumar, A. B. S., Dey, D., Balaji, T. S., Karthik, H., Sathishkumar, K., McDaid, P., Fitzpatrick, B., Awasthi, A., Davies, S., and Dirat, O. (2024). Nitrite in Pharmaceutical Manufacturing Water: Development of an Ultra-Sensitive Analytical Method, Typical Data, and Discussion of Potential Nitrosamine Formation in Drug Substance and Drug Product from Water. *Organic Process Research and Development*, 28, 2614-2622.
- Leaft, C., Wishnok, S. and Tannenbaum, S. (1989). L-Arginine is a precursor for nitrate biosynthesis in humans. *BiochemBiophys Res. Commun.*, 163(2), 1032-1037.
- Leth, T., Fagt, S., Nielsen S., and Andersen R. (2008). Nitrite and nitrate content in meat products and estimated intake in Denmark from 1998 to 2006. *Food Addit Contam A*. 25, 1237–1245.
- Li, M., Wang, H., Zhang, X., and Zhang, H. S. (2004). Development of a new fluorescent probe: 1,3,5,7-tetramethyl-8-(4'-aminophenyl)-4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacence for the determination of trace nitrite. *Spectrochimica Acta*, 60, 987-993.
- Lundberg, J. O. N., Carlsson, S., Engstrand, L., Morcos, E., Wiklund, N. P., and Weitzberg, E. (1997). Urinary nitrite: More Than a Marker of Infection. *Adult Urology*, 50(2), 189-191.
- Lundberg, J., Weitzberg, E., Cole, J., and Benjamin, N. (2004). Nitrate, bacteria and human health. *Nature Review Microbiology* 2, 593-602.
- Ma, C., Hou, S., Zhou, X., Wang, Z., and Yoon, J. (2021). Rational Design of Meso-Phosphino-Substituted BODIPY Probes for Imaging Hypochlorite in Living Cells and Mice. *Analytical Chemistry*, 93, 9640-9646.
- Ma, Y., Wang, Y., Xie, D., Gu, Y., Zhang, H., Wang, G., Zhang, Y., Zhao, H., and Wong, Po K. (2018). Nife-Layered Double Hydroxide Nanosheet Arrays Supported on Carbon Cloth for Highly Sensitive Detection of Nitrite. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 10, 6541-6551.
- Mako, T. L., Levenson, A. M., and Levine M. (2020). Ultrasensitive Detection Of Nitrite through Implementation of N-(1-Naphthyl)ethylenediamine-Grafted Cellulose into a Paper-Based Device. *ACS Sensors*, 5, 1207-1215.
- Maynard, D. N., Barker, A. V., Minotti P. L., and Peck N. H. (1976). Nitrate accumulation in vegetables. In: *Advances in agronomy*. American Society of Agronomy, (28). New York, NY: Academic Press.
- Medows, M., Nijres, B. M., Elbakoush, F., Alali, A., Patel, R., and Mohammad, S. (2016). Can urinary nitrites or other urinalysis findings be a predictor of bacterial resistance of uncomplicated urinary tract infections? *International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine*, 3, 12-17.
- Menard, C., Heraud F., Volatier J-L., Leblanc J-C. (2008). Assessment of dietary exposure of nitrate and nitrite in France. *Food Addit Contam*. 25(8), 971–988.

Metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM). JCGM 200:2012, 3rd Ed. Available from www.bipm.org.

Mihelač, M., Siljanovska, A., and Košmrj, J. (2021). A convenient approach to arenediazonium tosylates. *Dyes and Pigments*, 184, 108726.

Moorcroft, M. J., Davis, J., and Compton, R. G. (2001). Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. *Talanta*, 54, 785-803.

Murfin, L. C., López-Alled, C. M., Sedgwick, A. C., Wenk, J., James, T. D., and Lewis, S. E. (2020). A simple, azulene-based colorimetric probe for the detection of nitrite in water. *Front. Chem. Sci. Eng.* 14(1), 90-96.

Nodeh-Farani, D., Bentley, J. N., Crilley, L. R., Caputo, C. B., and VandenBoer, T. C. (2021). A boron dipyrromethene (BODIPY) based probe for selective passive sampling of atmospheric nitrous acid (HONO) Indoors. *Analyst*, 146, 5756-5766.

Nudelman, R., Kocks, G., Mouton, B., Ponting, D. J., Schlingemann, J., Simon, S., Smith, G. F., Teasdale, A., and Werner, A. L. (2023). The Nitrosamine “Saga”: Lessons Learned from Five Years of Scrutiny. *Organic Process Research and Development*, 27, 1719-1735.

Raucci, A., Miglione, A., Cimmino, W., Cioffi, A., Singh, S., Spinelli, M., Amoresano, A., Musile, G., and Cinti, S. (2024). Technical Evaluation of a Paper-Based Electrochemical Strip to Measure Nitrite Ions in the Forensic Field. *ACS Measurement Science*, 4, 136-143.

Sebranek, J. G., Cassens R. G., Greaser M. L. (1978). Separation of water-soluble reaction products of nitrite in cured meat, *J. Food Sci.*, 43.

Sebranek, J. G., Cassens R. G., Hoekstra W. G., and Winder, W. C. (1973). ¹⁵N tracer studies of nitrite added to a comminuted meat product. *J. Food Sci.*, 38.

Shen, Y., Zhang, Q., Qian, X., and Yang, Y. (2015). Practical Assay for Nitrite and Nitrosothiol as an Alternative to the Griess Assay or the 2,3-Diaminonaphthalene Assay. *Analytical Chemistry*, 87, 1274-1280.

Sindelar, J. J., and Milkowski, A. L. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide*. 26, 259–266.

Singh, L. and Ranjan, N. (2023). Highly Selective and Sensitive Detection of Nitrite Ion by an Unusual Nitration of a Fluorescent Benzimidazole. *Journal of The American Chemical Society*, 145, 2745-2749.

Suresh Kumar, A. B., Dey, D., Balaji, T. S., Karthik, B. H., Sathishkumar, K., McDaid, P., Fitzpatrick, B., Awasthi, A., Davies, S., and Dirat, O. (2024). Nitrite in Pharmaceutical Manufacturing Water: Development of an Ultra-Sensitive Analytical Method, Typical Data, and Discussion of Potential Nitrosamine Formation in Drug Substance and Drug Product from Water. *Organic Process Research and Development*, 28, 2614-2622.

Tan, E. (2003). Gıda Kirlenmesinde Nitrat, Nitrit ve Oluşturdukları Riskler. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi, 3, 1-5.

Tao, H., Zhang, Z., Cao, Q., Li, L., Xu, S., Jiang, C., Li, Y., and Liu, Y. (2022). Ratiometric fluorescent sensors for nitrite detection in the environment based on carbon dot/Rhodamine B systems. The Royal of Chem. 12, 12655-12662.

Taweekarn, T., Wongniramaikul, W., Boonkanon, C., Phatthanawiwat, K., Pasitsuparoad, P., Ritchie, R. J., and Choodum, A. (2022). Griess-doped polyvinyl alcohol thin film for on-site simultaneous sample preparation and nitrite determination of processed meat products. Food Chemistry, 389, 133085.

Thomson, B. M., Nokes, C. J., and Cressey P. J. (2007). Intake and risk assessment of nitrate and nitrite from New Zealand foods and drinking water. Food Addit Contam A. 24, 113–121.

Urano, Y., Asanuma, D., Hama, Y., Koyama, Y. Barrett, T., Kamiya, M., Nagano, T., Watanabe, T., Hasegawa, A., Choyke, P. L., and Kobayashi, H. (2009). Selective molecular imaging of viable cancer cells with pH-activatable fluorescence probes. Nature Medicine, 15(1), 104-109.

Walker, R. (1990). Nitrates and N-nitroso compounds: A review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. Food Additives and Contaminants 7, 717–76.

Wang, H., Wan, N., Ma, L., Wang, Z., Cui, W., and Chen, Y. (2018). A novel and simple spectrophotometric method for detection of nitrite in aqueous. The Royal Society of Chem. 1-14.

Ward, M. H., deKok, T. M., Levallois, P., Brender, J., Gulis, G., Nolan, B. T., and VanDerslice, J. (2005). Workgroup Report: Drinking-Water nitrate and Health – Recent Findings and Research Needs. Environmental Health Perspectives, 113(11), 1607-1614.

Weitzberg, E., and Lundberg O. (2013). Novel aspects of dietary nitrate and human health. Annu Rev. Nutr. 33, 129–159.

WHO, Nitrate and Nitrite in Drinking-water (2016). WHO, <https://www.who.int/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/nitrate-nitrite-background-document.pdf>.

[WCRF] World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. (2007).

Xu, J., Shi, Y., Yang, S., Yang, J., Zhang, X., Xu, L., Bian, Z., Xu, Z., and Zhu, B. (2021). Highly selective colorimetric fluorescent probe for detecting nitrite in aqueous solution. Microchemical Journal, 169, 106342.

Yang, Z., Zhong, Y., Zhou, X., Zhang, W., Yin, Y., Fang, W., and Xue, H. (2022). Metal-organic framework-based sensor for nitrite detection: a short review. Journal of Food Measurement and Characterization, 16, 1572-1582.

Yaqoob, M., Biot, B. F., Nabi, A., and Worsfold, P. J. (2012). Determination of nitrate and nitrite in freshwaters using flow-injection with luminol chemiluminescence detection. *The Journal of Biological and Chemical Luminescence*, 27, 419-425.

Yuan, L., Zhang, J., Wu, X., Li, N., Liu, H., and He, L. (2021). The Determination of Nitrite Content in Market Sausages. *Earth and Environmental Science*, 631, 012036.

Zeng, L., Ke, Y., Yang, X., Lan, M., Zhao, S., and Zhu, B. (2024). Intramolecular cascade reaction sensing platform for rapid, specific and ultrasensitive detection of nitrite. *Food Chemistry*, 438, 138044.

Zhang, H., Kang, S., Wang, G., Zhang, Y., and Zhao, H. (2016). Fluorescence Determination of Nitrite in Water Using Prawn-Shell Derived Nitrogen-Doped Carbon Nanodots as Fluorophores. *ACS Sensors*, 1, 875-881.

Zhang, J., Pan, F., Jin, Y., Wang, N., He, J., and Zhang, W. (2018). A BODIPY-based dual-responsive turn-on fluorescent probe for NO and nitrite. *Dyes and Pigment*, 155, 276-283.

Zhang, J., Yue, C., Ke, Y., Qu, H., and Zeng, L. (2023). Fluorescent probes for the detection of biogenic amines, nitrite and sulfite in food: Progress, challenges and perspective. *Advanced Agrochem*, 2, 127-141.

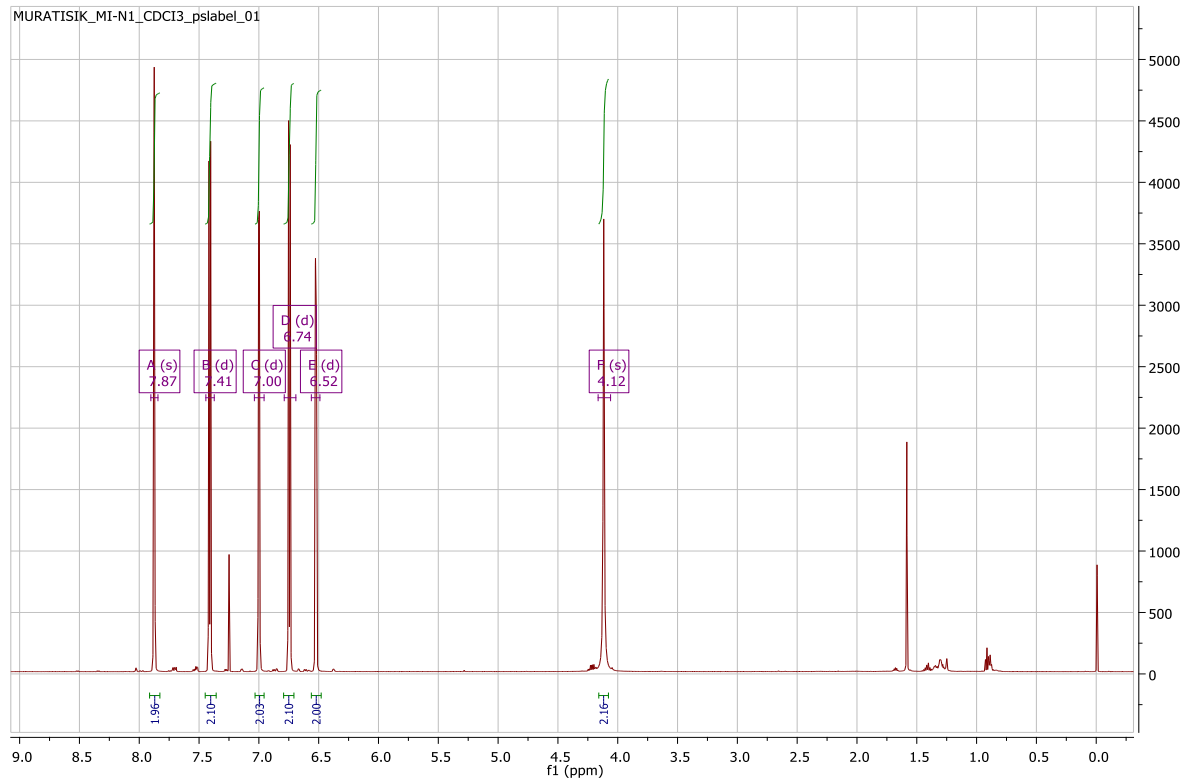
Zhang, Q., Wang, Y., Song, A., Yang, X., Yin, D., and Shen L. (2024). Advancements in Fluorescent probes for nitrite sensing: A review. *Journal of Molecular Structure*, 1296, 136926.

Zhao, W., Yang, H., Xu, S., Li, X., Wei, W., and Liu X. (2019). Olive-Structured Nanocomposite Based on Multiwalled Carbon Nanotubes Decorated with an Electroactive Copolymer for Environmental Nitrite Detection. *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 7, 17424-17431.

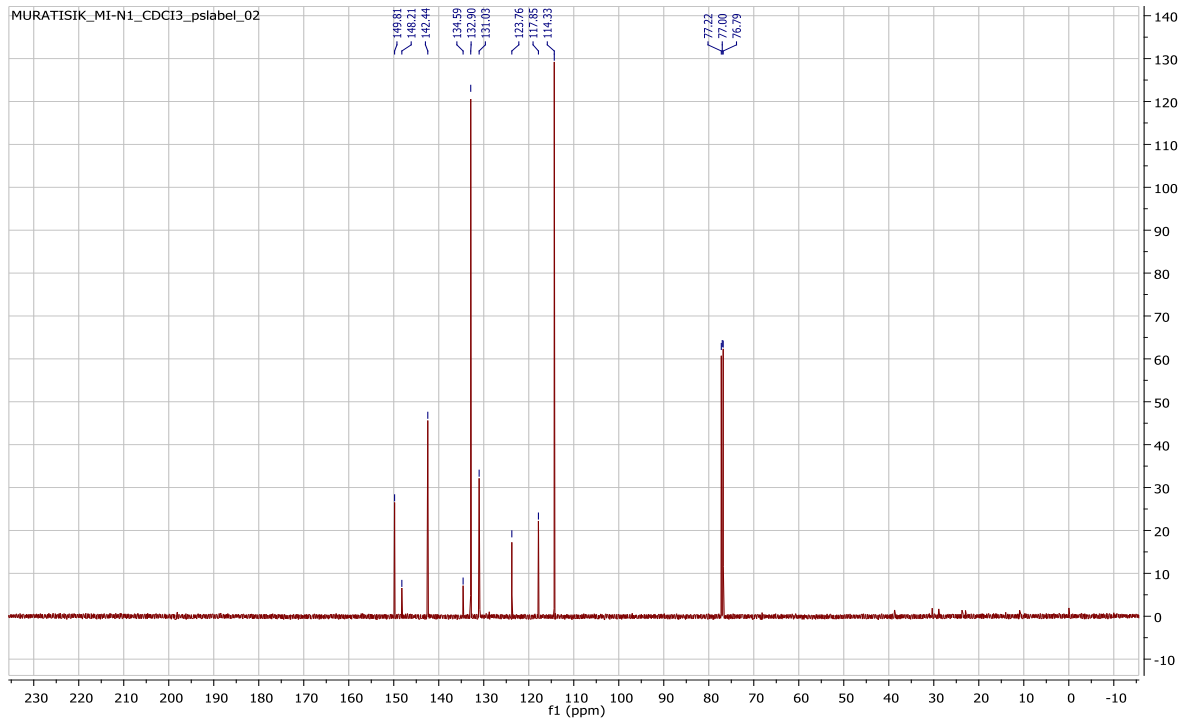
EKLER

Ek A

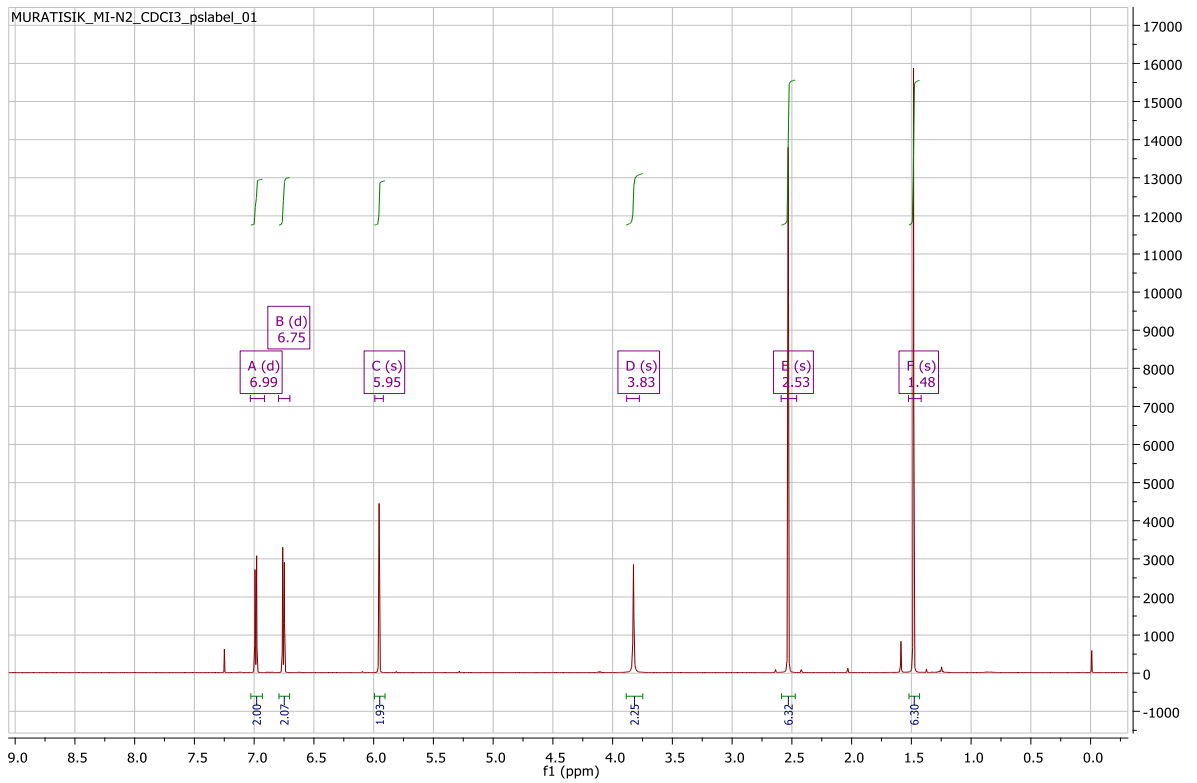
NMR Spektrumları



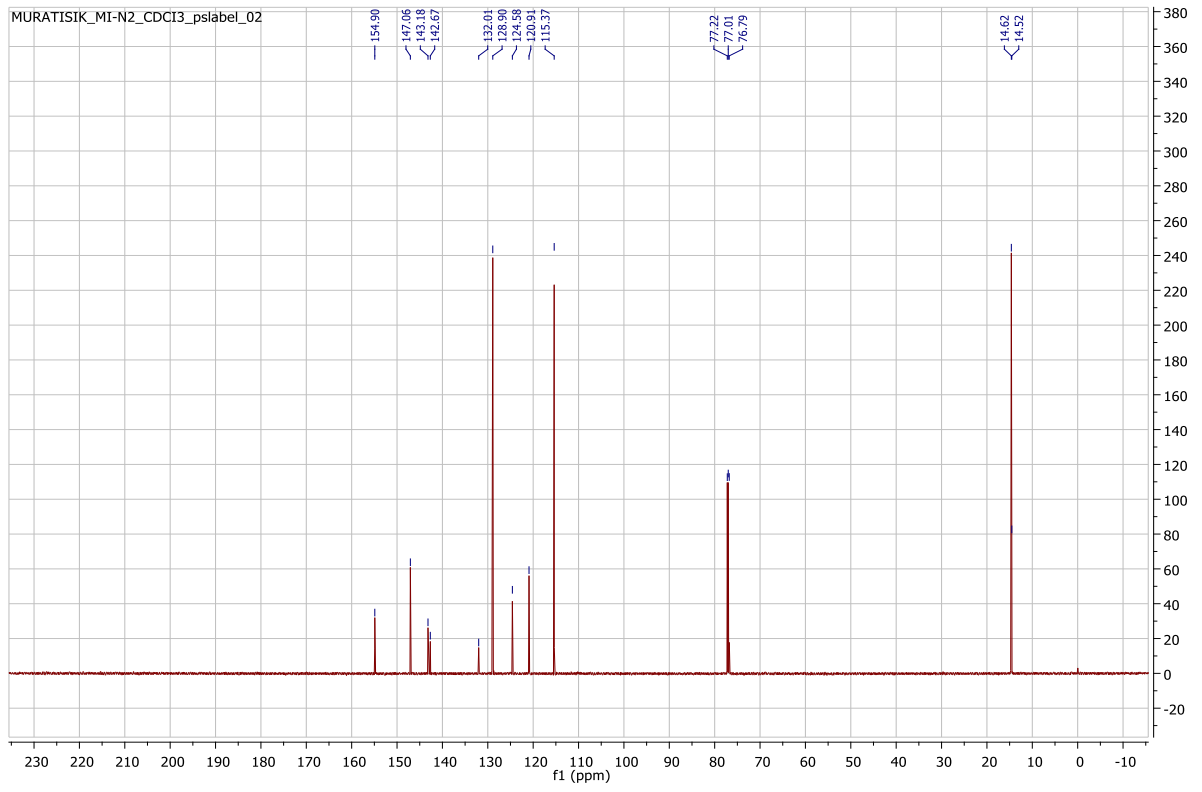
Şekil A.1. NP-1 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (CDCl₃, 25 °C)



Şekil A.2. NP-1 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 25 °C)



Şekil A.3. NP-2 bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (CDCl_3 , 25 °C)



Şekil A.4. NP-2 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3 , 25 °C)