

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SPEKTROFLORİMETRİK METOTLA İNSAN SERUM ALBUMİN PROTEİNİ
İLE DİKLORPROP, KARBOFURAN, AMİTROL VE DİKUAT ARASINDAKİ
ETKİLEŞİMLERİN İNCELENMESİ**

İnanç SOYLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

2013

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SPEKTROFLORİMETRİK METOTLA İNSAN SERUM ALBUMİN PROTEİNİ
İLE DİKLORPROP, KARBOFURAN, AMİTROL VE DİKUAT ARASINDAKİ
ETKİLEŞİMLERİN İNCELENMESİ**

İnanç SOYLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından 2011.02.0121.016 nolu proje ile desteklenmiştir.**

2013

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SPEKTROFLORİMETRİK METOTLA İNSAN SERUM ALBUMİN PROTEİNİ
İLE DİKLORPROP, KARBOFURAN, AMİTROL VE DİKUAT ARASINDAKİ
ETKİLEŞİMLERİN İNCELENMESİ

İnanç SOYLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 02/04/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından (95) not takdir edilerek Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Doç. Dr. Pınar ÇAMURLU

Yrd. Doç. Dr. Memduh Sami TANER


.....

.....

.....

ÖZET

SPEKTROFLORİMETRİK METOTLA İNSAN SERUM ALBUMİN PROTEİNİ İLE DİKLORPROP, KARBOFURAN, AMİTROL VE DİKUAAT ARASINDAKİ ETKİLEŞİMLERİN İNCELENMESİ

İnanç SOYLU

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Nisan 2013, 93 sayfa

Bu çalışmada, kan plazmasında en çok bulunan protein olan insan serum albumin (HSA) proteini ile diklorprop (DCP), karbofuran (CF), amitrol (AR) ve dikuat (DQ) pestisitlerinin etkileşimleri floresans ve senkronize floresans spektroskopisiyle incelenmiştir. Floresans ölçümleri 4 farklı sıcaklıkta (288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de) gerçekleştirilmiştir. HSA-AR sistemi hariç diğer tüm HSA-pestisit sistemlerinde etkileşim gözlenmiştir. HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ sistemleri için Stern-Volmer sönümlenme sabiti, sönümlenme hız sabiti, bağlanma sabiti, bağlanma yeri sayısı ve termodinamik parametre (ΔH , ΔS ve ΔG) değerleri hesaplanmıştır.

DCP'nin HSA proteinine bağlanması prosesinde sönümlenme mekanizması statik sönümlenme olarak tespit edilmiştir. HSA-DCP sistemine ait bağlanma sabitleri 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de sırasıyla $7,48 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, $6,62 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, $6,36 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ve $5,39 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Ayrıca, HSA üzerinde 1 adet DCP bağlanma noktası mevcuttur. HSA-DCP sisteminin termodinamik parametre değerlerinden bağlanma prosesinde elektrostatik etkileşimin etkin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. HSA-CF sistemi için çözelti sıcaklığının 288,15 K'den 318,15 K'e artırılması ile bağlanma sabiti değerinin $3,38 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'den $1,29 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'e düştüğü ve bağlanma yeri sayısının az miktarda azaldığı gözlenmiştir. Termodinamik parametrelerin incelenmesiyle CF maddesinin HSA proteinine bağlanmasında hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetlerinin etkin olduğunu anlaşılmıştır. HSA-DQ sistemi için 288,15 K ve 318,15

K'de bağlanma sabiti değeri sırasıyla $4,04 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ve $2,36 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu sistem için bağlanma yeri sayısı yaklaşık 1 olarak bulunmuştur. Ayrıca; termodinamik parametreler, DQ maddesinin HSA proteinine bağlanması prosesinin elektrostatik etkileşimlerle kendiliğinden gerçekleştiğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELER: İnsan serum albumin, dikloprop, karbofuran, amitrol, dikuat, floresans spektroskopisi.

JÜRİ: Prof. Dr. Sibel TUNÇ (Danışman)

Doç. Dr. Pınar ÇAMURLU

Yrd. Doç. Dr. Memduh Sami TANER

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE INTERACTIONS OF DICHLORPROP, CARBOFURAN, AMITROL AND DIQUAT WITH HUMAN SERUM ALBUMIN PROTEIN BY SPECTROFLUORIMETRIC METHOD

İnanç SOYLU

M.Sc. Thesis in Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Sibel TUNÇ

April 2013, 93 pages

In this study, the interactions of human serum albumin (HSA) protein, the most abundant protein in human blood plasma, with dichlorprop (DCP), carbofuran (CF), amitrol (AR) and diquat (DQ) pesticides were investigated by fluorescence and synchronous fluorescence spectroscopy. Fluorescence measurements were carried out at four different temperatures (288.15 K, 298.15K, 310.15 K and 318.15 K). Fluorescence measurements proved that there were interactions between HSA and pesticides except HSA-AR system. Stern-Volmer quenching constant, quenching rate constant, binding constant, number of binding site and thermodynamic parameter (ΔH , ΔS and ΔG) values were calculated for the binding processes of HSA-DCP, HSA-CF and HSA-DQ systems.

Quenching mechanism for the binding process of DCP to HSA protein was static quenching mechanism. Binding constants for HSA-DCP system at 288.15 K, 298.15 K, 300.15 K ve 318.15 K were found to be $7.48 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, $6.62 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, $6.36 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ and $5.39 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, respectively. Furthermore, there was only one binding site for DCP on HSA protein. Thermodynamic parameters of HSA-DCP system showed that driving force for binding process was electrostatic interaction. As the temperature of solution was increased from 288.15 K to 318.15 K, a decrease from $3.38 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ to $1.29 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ in the binding constant of HSA-CF system was observed and the number of binding site decreased slightly. Upon investigation of thermodynamic parameters, the main

driving force of HSA-CF complex formation was found to be hydrogen bonding and van der Waals forces. At 288.15 K and 318.15 K, the value of binding constant for HSA-DQ system were calculated to be $4.04 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ and $2.36 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, respectively. For this system, the number of binding site was found to be 1 approximately. Additionally, thermodynamic parameters showed that the binding process of DQ to HSA protein occurs spontaneously under the influence of electrostatic interactions.

KEYWORDS: Human serum albumin, dichlorprop, carbofuran, amitrol, diquat, fluorescence spectroscopy.

COMMITTEE: Prof. Dr. Sibel TUNÇ (Supervisor)

Assoc. Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

Asst. Prof. Dr. Memduh Sami TANER

ÖNSÖZ

Tarımsal ürünlerde kaybı azaltmak ve birim alandan daha fazla ürün almak amacıyla kullanılan pestisitlerin sayısı ve kullanım miktarları gün geçtikçe artmaktadır. Pestisit kalıntıları kanserojenik, mutajenik, teratojenik veya allerjenik etkiler göstermektedir ve insan sağlığı açısından bir tehdit oluşturmaktadır. HSA proteini ile pestisitler arasında gerçekleşen etkileşimler, proteinin fizyolojik ve kimyasal özelliklerinde bazı değişimlere neden olabilmektedir. Bu etkileşimlerin sonucunda gerçekleşen değişimlerin aydınlatılması, pestisit kalıntılarının gıda, insan sağlığı ve çevre üzerine olan etkilerinin anlaşılması ve yeni tarımsal mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi açısından oldukça önemlidir.

Bu tez çalışması, insan serum albumin (HSA) proteini ile diklorprop (DCP), karbofuran (CF), amitrol (AR) ve dikuat (DQ) pestisitleri arasında meydana gelen etkileşimlerin araştırılmasını kapsamaktadır. Tez çalışması, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne "Spektrofotometrik metotla insan serum albumin proteini ile diklorprop, karbofuran, amitrol ve dikuat arasındaki etkileşimlerin incelenmesi" başlığı ile sunulmuş ve aynı birim tarafından 2011.02.0121.016 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Tez çalışmamın her aşamasında bilgisi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, yardım ve katkılarını benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sibel TUNÇ'a (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi), tecrübesi ve bilgisiyle tezime önemli katkıda bulunan Sayın Doç. Dr. Osman DUMAN'a (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi), UV/VIS/NIR spektrofotometre cihazının kullanımına izin veren Sayın Prof. Dr. Ertuğrul ARPAÇ'a (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi), çalışmalarım sırasında hoşgörüsü ve yardımları ile bana destek olan başta Sayın Prof. Dr. Cengiz SAYIN (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi) olmak üzere mesai arkadaşlarıma ve bölümümüzdeki çalışma arkadaşlarıma, maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olarak beni bu günlere getiren AİLEME, beni her zaman doğruya yönlendiren, yardımlarını, bilgisini ve sevgisini benden esirgemeyen Sezgi KOÇAK'a ve 2011.02.0121.016 no'lu proje ile bu çalışmaya destek veren Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
1.1. Amino Asitler.....	1
1.1.1. Amino asitlerin genel yapısı ve sınıflandırılması	1
1.1.2. Amino asitlerin özellikleri ve fonksiyonları	4
1.2. Proteinler	5
1.2.1. Proteinlerin yapıları.....	5
1.2.1.1. Primer (birincil) yapı	5
1.2.1.2. Sekonder (ikincil) yapı	6
1.2.1.3. Tersiyer (üçüncül) yapı	8
1.2.1.4. Kuaterner (dördüncül) yapı	9
1.2.2. Proteinlerin sınıflandırılması.....	9
1.2.3. İnsan serum albumin (HSA) proteini	10
1.2.3.1. İnsan serum albumin (HSA) proteininin yapısı	11
1.2.3.2. İnsan serum albumin (HSA) proteininin üzerindeki bağlanma noktaları.....	12
1.3. Pestisitler	12
1.3.1. Pestisitlerin sınıflandırılması.....	13
1.3.2. Diklorprop (DCP)	14
1.3.3. Karbofuran (CF)	14
1.3.4. Amitrol (AR)	15
1.3.5. Dikuat (Dikuat dibromür) (DQ)	16
1.4. Proteinler ile Pestisitler Arasındaki Etkileşimlerin Önemi	17
1.5. Floresans Spektroskopisi.....	17

1.6. Araştırmanın Amacı.....	19
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI.....	20
2.1. Serum Albumin Proteini ile Pestisitler Arasındaki Etkileşimlerin İncelenmesi Konusunda Literatürde Yapılan Çalışmalar.....	20
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. Materyal	24
3.2. Metot	25
3.2.1. Protein, pestisit ve protein-pestisit karışım çözeltilerinin hazırlanması.....	25
3.2.2. Protein-pestisit etkileşimlerinin incelenmesi	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Diklorprop, Karbofuran, Amitrol ve Dikuat Pestisitleri ile HSA Proteini Arasındaki Etkileşimlerin Floresans Spektroskopisi ile İncelenmesi	29
4.2. Etkileşim Gösteren HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ Sistemleri İçin Bağlanma Sabiti Değerleri ve Bağlanma Yeri Sayıları	66
4.3. Etkileşim Gösteren HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ Sistemleri İçin Hesaplanan Termodinamik Parametreler ve Etkileşimlerdeki Bağlanma Kuvvetleri	74
4.4. Diklorprop, Karbofuran, Amitrol ve Dikuat Pestisitleri ile HSA Proteini Arasındaki Etkileşimlerin Senkronize Floresans Spektroskopisi ile İncelenmesi	79
5. SONUÇ	86
6. KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

$\Delta\lambda$	Emisyon ve uyarılma dalga boyları arasındaki fark
Å	Angström
A_{em}	Emisyon dalga boyunda maddenin sahip olduğu absorbans değeri
A_{uy}	Uyarılma dalga boyunda maddenin sahip olduğu absorbans değeri
F	Protein çözeltisinin pestisit varlığındaki floresans şiddeti
F_0	Protein çözeltisinin pestisit yokluğundaki floresans şiddeti
$F_{düz}$	Protein-pestisit çözeltisinin düzeltilmiş floresans şiddeti
$F_{göz}$	Protein pestisit çözeltisinin gözlemlenen floresans şiddeti
h	Plank sabiti
K	Kelvin cinsinden sıcaklık birimi
K_b	Bağlanma sabiti
kg	Kilogram
kJ	Kilojoule
k_q	Sönümlenme hız sabiti
K_{SV}	Stern-Volmer sönümlenme sabiti
L	Litre
LD_{50}	Bir toksik maddenin test edilen popülasyonunun yarısını öldürmek için gerekli doz miktarı
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
n	Bağlanma yeri sayısı
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece cinsinden sıcaklık birimi
Q	Pestisit konsantrasyonu
Q_t	Çözeltideki toplam pestisit konsantrasyonu
P_t	Çözeltideki toplam protein konsantrasyonu
R	İdeal gaz sabiti

r	Regresyon katsayısı
T	Sıcaklık
ν	Frekans
ΔG	Gibbs serbest enerji değişimi
ΔH	Entalpi değişimi
ΔS	Entropi değişimi
λ	Dalga boyu
τ_0	Pestisit yokluğunda proteinin floresans yarı ömür süresi

Kısaltmalar

AR	Amitrol
Arg	Arjinin
BM	Benslfron-metil
BHb	Sığır hemoglobin proteini
BSA	Sığır serum albumin
CD	Dairesel dikroizm
CF	Karbofuran
DCP	Diklorprop
DQ	Dikuat (Dikuat dibromür)
EPA	Amerika Birleřik Devletleri evre Koruma Ajansı
HSA	İnsan serum albumin
MT	Tiyofanat metil
MTS	Metslfron-metil
PCP	Pentaklorofenol
PY	Pirazoslfron
QUC	Kuinklorak
TDF	Tradimefon
Trp	Triptofan
Tyr	Tirozin
UV-VIS	Ultraviyole-görünür

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Amino asitlerin genel yapısı	1
Şekil 1.2. Standart amino asitlerin kimyasal yapıları.....	2
Şekil 1.3. Aromatik amino asitlerin ultraviyole absorpsiyon spektrumu.....	3
Şekil 1.4. Optik izomerizm ve gliseraldehitin D ve L formları	4
Şekil 1.5. Primer yapı.....	6
Şekil 1.6. α -Heliks yapı.....	7
Şekil 1.7. β -Tabakalı yapı	7
Şekil 1.8. Tersiyer yapı	8
Şekil 1.9. Kuaterner yapı.....	9
Şekil 1.10. İnsan serum albumin (HSA) proteininin yapısı	11
Şekil 1.11. HSA proteinindeki Sudlow bağlanma noktaları	12
Şekil 1.12. Diklorprop (DCP)'un kimyasal yapısı.....	14
Şekil 1.13. Karbofuran (CF)'in kimyasal yapısı	15
Şekil 1.14. Amitrol (AR)'un kimyasal yapısı	16
Şekil 1.15. Dikuat (DQ)'ın kimyasal yapısı.....	17
Şekil 1.16. Jablonski diyagramı	18
Şekil 4.1. 288,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....	30
Şekil 4.2. 298,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....	30

- Şekil 4.3. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....31
- Şekil 4.4. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....31
- Şekil 4.5. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M32
- Şekil 4.6. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M32
- Şekil 4.7. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M33
- Şekil 4.8. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M33
- Şekil 4.9. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....34
- Şekil 4.10. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....34

- Şekil 4.11. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....35
- Şekil 4.12. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....35
- Şekil 4.13. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M36
- Şekil 4.14. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M36
- Şekil 4.15. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M37
- Şekil 4.16. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M37
- Şekil 4.17. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. [AR] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....38
- Şekil 4.18. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. [AR] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....38

- Şekil 4.19. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. [AR] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....39
- Şekil 4.20. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. [AR] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....39
- Şekil 4.21. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M40
- Şekil 4.22. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M40
- Şekil 4.23. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M41
- Şekil 4.24. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M41
- Şekil 4.25. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....42
- Şekil 4.26. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....42

- Şekil 4.27. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....43
- Şekil 4.28. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M.....43
- Şekil 4.29. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M44
- Şekil 4.30. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M44
- Şekil 4.31. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M45
- Şekil 4.32. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M45
- Şekil 4.33. 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K sıcaklıklardaki 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları46
- Şekil 4.34. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....47

- Şekil 4.43. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....53
- Şekil 4.44. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....53
- Şekil 4.45. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....54
- Şekil 4.46. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....55
- Şekil 4.47. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....55
- Şekil 4.48. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....56
- Şekil 4.49. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....56
- Şekil 4.50. 288,15 K’de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği.....58
- Şekil 4.51. 298,15 K’de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği.....58
- Şekil 4.52. 310,15 K’de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği.....59

Şekil 4.53. 318,15 K’de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	59
Şekil 4.54. 288,15 K’de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	60
Şekil 4.55. 298,15 K’de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	60
Şekil 4.56. 310,15 K’de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	61
Şekil 4.57. 318,15 K’de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	61
Şekil 4.58. 288,15 K’de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	62
Şekil 4.59. 298,15 K’de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	62
Şekil 4.60. 310,15 K’de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	63
Şekil 4.61. 318,15 K’de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği.....	63
Şekil 4.62. 288,15 K’de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	67
Şekil 4.63. 298,15 K’de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	67
Şekil 4.64. 310,15 K’de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	68
Şekil 4.65. 318,15 K’de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	68
Şekil 4.66. 288,15 K’de HSA-CF sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	69
Şekil 4.67. 298,15 K’de HSA-CF sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	69
Şekil 4.68. 310,15 K’de HSA-CF sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	70
Şekil 4.69. 318,15 K’de HSA-CF sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	70
Şekil 4.70. 288,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	71
Şekil 4.71. 298,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....	71

- Şekil 4.72. 310,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....72
- Şekil 4.73. 318,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği.....72
- Şekil 4.74. DCP’nin HSA’ya bağlanmasına ait van’t Hoff grafiği ($r= 0,9538$)75
- Şekil 4.75. CF’nin HSA’ya bağlanmasına ait van’t Hoff grafiği ($r= 0,9709$)76
- Şekil 4.76. DQ’nun HSA’ya bağlanmasına ait van’t Hoff grafiği ($r= 0,9965$)76
- Şekil 4.77. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltilisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....80
- Şekil 4.78. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltilisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....81
- Şekil 4.79. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltilisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....81
- Şekil 4.80. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltilisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....82
- Şekil 4.81. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltilisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....82
- Şekil 4.82. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltilisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....83

Şekil 4.83. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....83

Şekil 4.84. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M.....84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan pestisitlerin kısaltmaları ve molekül kütleleri	24
Çizelge 4.1. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda DCP'nin HSA ile etkileşimine ilişkin K_{SV} , r ve k_q değerleri	64
Çizelge 4.2. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda CF'nin HSA ile etkileşimine ilişkin K_{SV} , r ve k_q değerleri	64
Çizelge 4.3. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda DQ'nun HSA ile etkileşimine ilişkin K_{SV} , r ve k_q değerleri.....	65
Çizelge 4.4. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda DCP'nin HSA'ya bağlanmasına ait K_b , n ve r değerleri	73
Çizelge 4.5. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda CF'nin HSA'ya bağlanmasına ait K_b , n ve r değerleri	73
Çizelge 4.6. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda DQ'nun HSA'ya bağlanmasına ait K_b , n ve r değerleri	73
Çizelge 4.7. Fizyolojik pH'ta DCP'nin HSA'ya bağlanmasına ilişkin prosese ait termodinamik parametre değerleri	77
Çizelge 4.8. Fizyolojik pH'ta CF'nin HSA'ya bağlanmasına ilişkin prosese ait termodinamik parametre değerleri	77
Çizelge 4.9. Fizyolojik pH'ta DQ'nun HSA'ya bağlanmasına ilişkin prosese ait termodinamik parametre değerleri	78

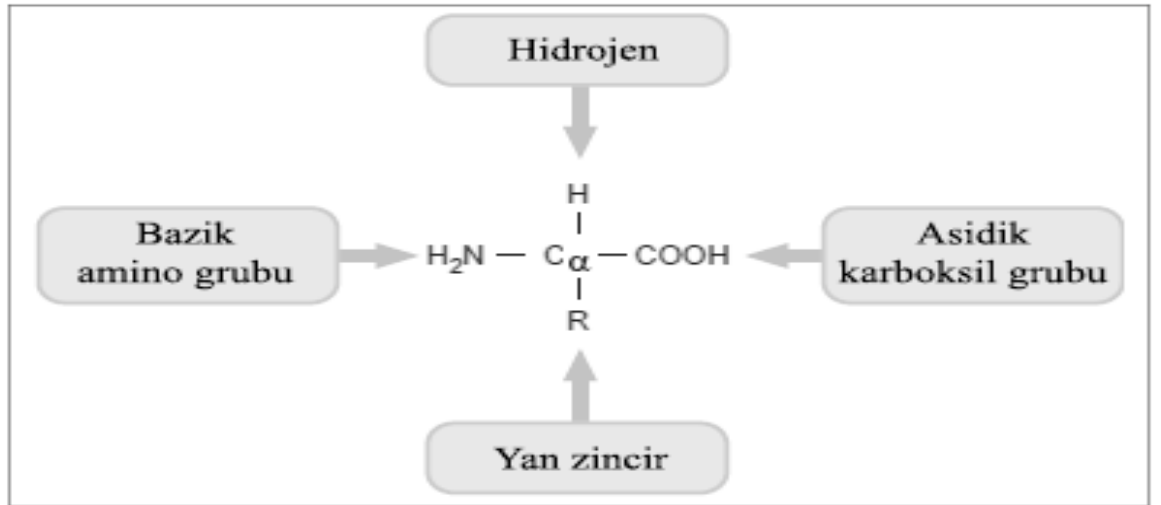
1. GİRİŞ

1.1. Amino Asitler

Amino asitler, proteinlerin temel yapı birimidir. Toplam 500'e yakın amino asit tanımlanmış olsa da sadece 22 tanesi protein yapımında kullanılmaktadır. Bunlardan 20 tanesi "standart aminoasitler" (insanlarda bulunan amino asitler) olarak adlandırılır (Wagner ve Musso 1983).

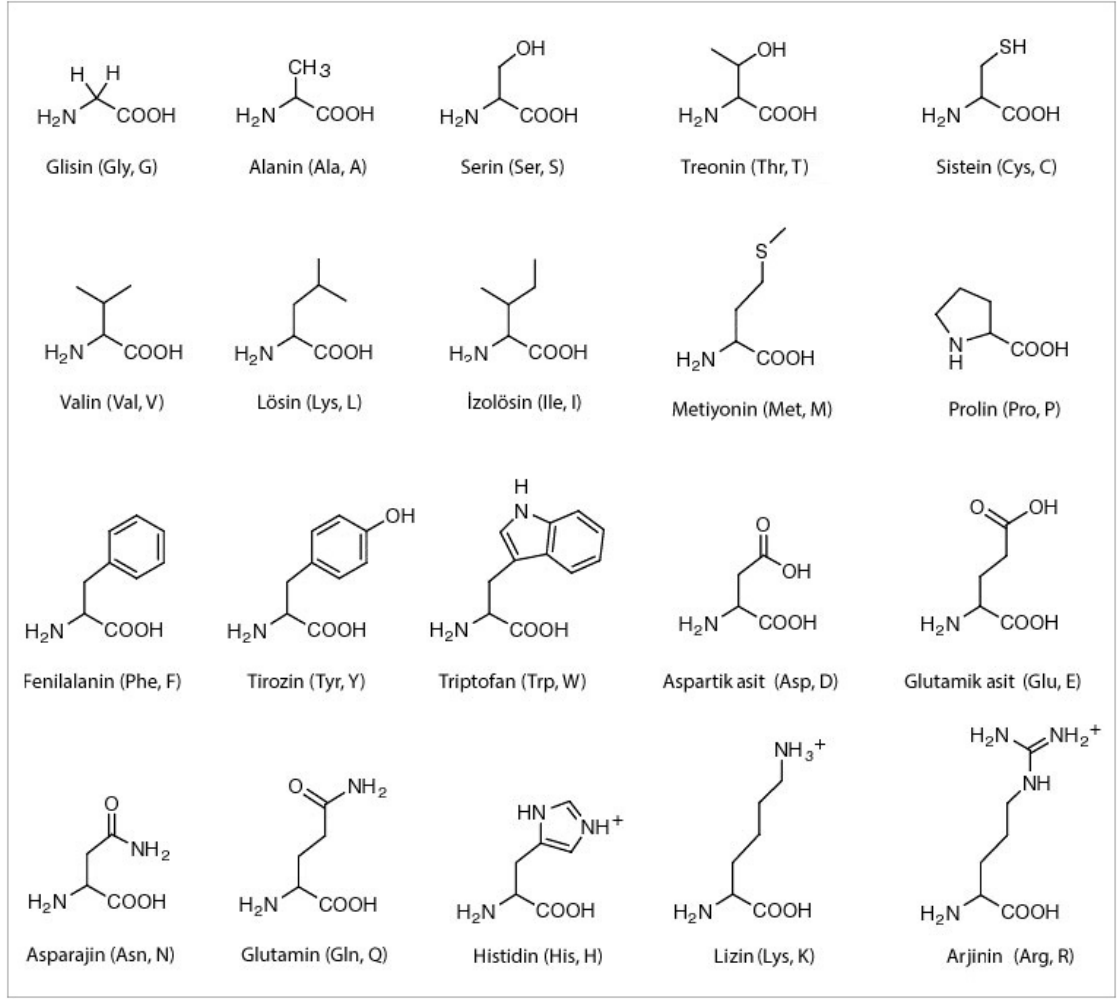
1.1.1. Amino asitlerin genel yapısı ve sınıflandırılması

Bir amino asitin genel formülünde, α -karbon atomuna bağlı bir karboksil (-COOH) grubu, bir amino (-NH₂) grubu, bir hidrojen (-H) atomu ve her amino asit için farklı olan bir R grubu bulunmaktadır. R gruplarına aynı zamanda "yan zincir" adı da verilebilir. Şekil 1.1'de amino asitlerin genel yapısı gösterilmektedir (Taniguchi 1999).



Şekil 1.1. Amino asitlerin genel yapısı

Glisin amino asiti en basit yapıya sahiptir ve bu amino asitin R grubu yalnızca hidrojen atomundan oluşmaktadır. Diğer tüm amino asitlerde en az bir asimetrik karbon atomu yer almaktadır. Bu durum, amino asitlere polarize ışığı iki yöne çevirme yeteneği kazandırır. Standart amino asitler ve bunların kimyasal yapıları Şekil 1.2'de verilmektedir (Schermann 2008).



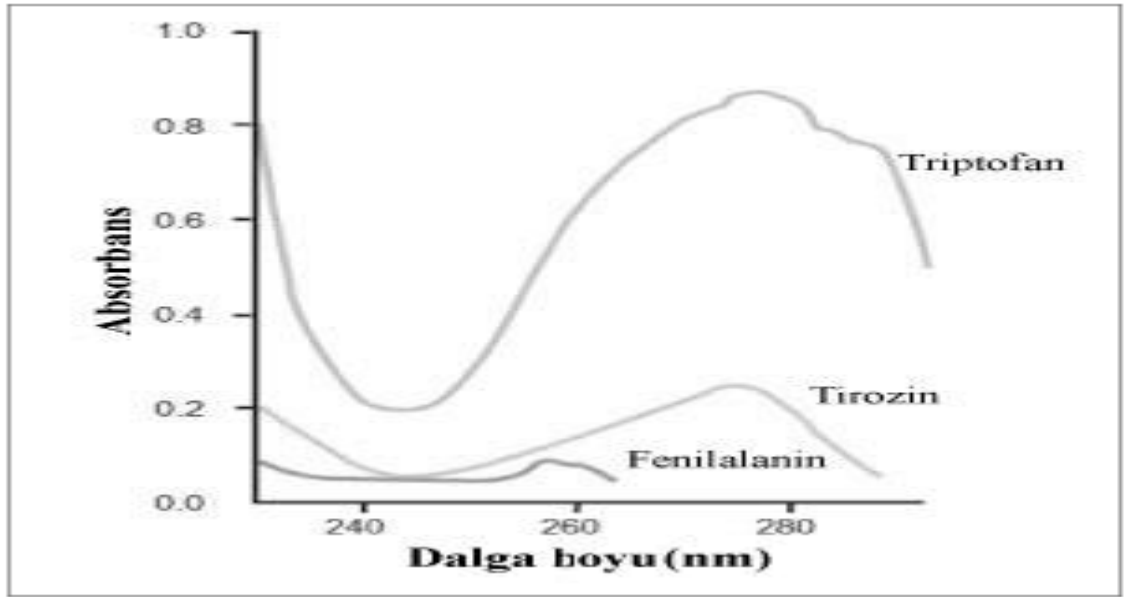
Şekil 1.2. Standart amino asitlerin kimyasal yapıları

Amino asitlerin net yük, çözünürlük, kimyasal reaktivlik ve hidrojen bağlama gücü gibi bazı fizikokimyasal özellikleri R grubunun kimyasal doğasına bağlıdır. Proteinlerde bulunan amino asitler, yan zincirindeki R gruplarına göre, alifatik amino asitler, aromatik amino asitler, nötral amino asitler, asidik amino asitler, bazik amino asitler ve sülfür içeren amino asitler olmak üzere 6 sınıfa ayrılmaktadır.

Alifatik amino asitler: Alanin, valin, lösın ve izolösın gibi yan zinciri doymuş hidrokarbon içeren amino asitlerdir. Glisin amino asitinin yan grubu sadece hidrojen atomu olsa da bu grupta sayılır. Bu amino asitler hidrofobiktir.

Aromatik amino asitler: Fenilalanin, tirozin ve triptofan aromatik amino asitlerdir. Apolar alifatik amino asitler ile aromatik amino asitler, proteinin iç kısmına

gömülmüştür ve birbirleri ile hidrofobik etkileşim halindedir. Tirozin amino asiti zayıf asidik hidroksil grubu içerir ve bu nedenle, protein yüzeyinde yer alabilir. Tirozin amino asitinin hidroksil grubu ayrıca tersinir fosforilizasyona uğrayabilir. Aromatik amino asitler, ultraviyole ışığı absorplamaktadır. Tirozin amino asiti 280 nm'de maksimum absorpsiyona sahiptir (Bkz. Şekil 1.3). Triptofan amino asitinin diğer iki aromatik amino asite göre (tirozin ve fenilalanin) absorpsiyonu daha şiddetlidir (Taniguchi 1999).



Şekil 1.3. Aromatik amino asitlerin ultraviyole absorpsiyon spektrumu

Nötral amino asitler: Nötral amino asitler, amit veya hidroksil yan zinciri içerir. Serin ve treonin amino asitleri hidroksil grubuna sahiptir ve katalitik proteinlerin (enzimler) aktif bölgelerinde bulunur. Asparajin ve glutamin amino asitleri, amit grubu içeren amino asitlerdir. Bu amino asitler polar olsalar da fizyolojik koşullarda yüksüzdürler.

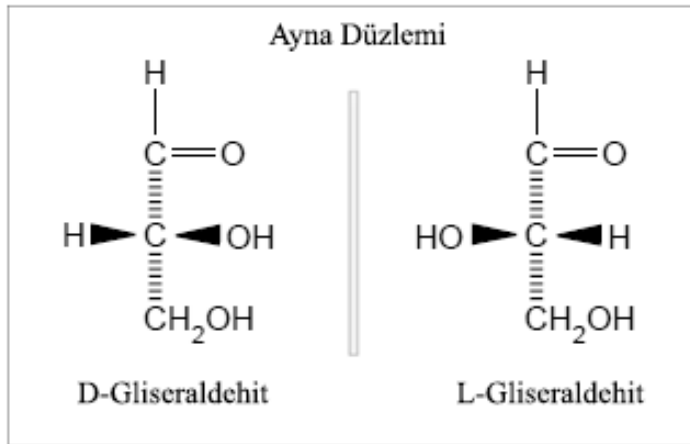
Asidik amino asitler: Aspartik ve glutamik amino asitleri yan zincirlerinde karboksilik asit grubu içerir. Bu amino asitler pH 7,0'da iyonlaşırlar.

Bazik amino asitler: Lizin ve arjinin amino asitleri, nötral pH'da pozitif yüklüdür. Lizin amino asitinin ϵ -karbonuna, amino grubu bağlıdır ve ϵ -amino grubunun pK_a 'sı 11'dir. Arjinin amino asiti, en bazik amino asittir ve pK_a 'sı 13'tür.

Sülfür içeren amino asitler: Sistein ve sistein dimerinden oluşan sistin amino asitleri sülfür içeren amino asitlerdir. Sülfür içeren amino asitler protein içerisindeki diğer sülfür içeren amino asitler ile çapraz bağlanarak disülfid köprüsü oluşturur. Disülfid köprüsü, proteinlerin kararlı yapısının oluşmasında önemli rol oynar (McKee ve McKee 2011).

1.1.2. Amino asitlerin özellikleri ve fonksiyonları

Glisin amino asiti dışında tüm amino asitler en az bir asimetrik karbon atomu içerirler. Bu sebeple optikçe aktiftirler ve polarize ışığı sağa ve sola çevirebilirler. Bu izomerlere “stereoizomer” veya “enantiyomer” denir. Polarize ışığı sağa çeviren amino asit konfigürasyonuna “D (dekstro)” ve polarize ışığı sola çeviren amino asit konfigürasyonuna “L (levo)” denir. Gliseraldehitin D ve L formları Şekil 1.4’te gösterilmektedir. Proteinlerdeki tüm amino asitler L konfigürasyonunda bulunur (McKee ve McKee 2011).



Şekil 1.4. Optik izomerizm ve gliseraldehitin D ve L formları

Amino asitler asidik ve bazik fonksiyonel gruplar içerdiği için hem asidik hem de bazik olarak davranabilir. Bu özelliğe amfoterik özellik denir. Amino asitlerin yapısı, içinde buldukları çözeltiye göre değişim gösterebilir (Taniguchi 1999).

Nötr moleküller pozitif ve negatif yükleri aynı anda içererek zwitter iyon oluşturur (McKee ve McKee 2011).

1.2. Proteinler

Proteinler, bir veya daha fazla polipeptit zinciri içeren büyük biyolojik moleküllerdir. Polipeptit zincirleri, bir amino asitin karboksil grubunun kendinden sonra gelen amino asitin amino grubuyla kurduğu peptit bağlarının birbirine bağlanmasıyla oluşan dizilmelerdir. Bu zincir üzerindeki amino asit sıralaması genetik kodla belirlenmektedir (Eckersall 2008).

Proteinler, canlılar için gerekli biyo-polimerlerdir. Canlı organizmalardaki çeşitli reaksiyonlar, enzim olarak görev yapan proteinler tarafından katalizlenmektedir. Tüm bunlara ek olarak proteinlerin yapısal ve mekanik özellikleri de bulunmaktadır. Örneğin; tüm bağ dokusu elastin ve kolajen isimli iki proteinden oluşmaktadır.

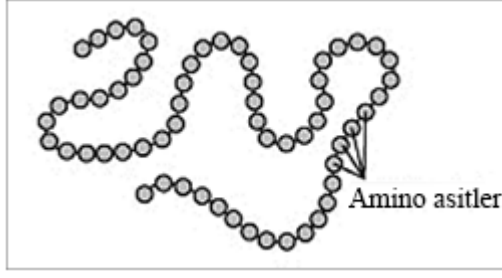
1.2.1. Proteinlerin yapıları

Proteinlerin biyolojik fonksiyonları yerine getirebilmesi, ayrıca fiziksel ve kimyasal özellikler gösterebilmesi için konformasyonel yapılarını kazanmaları gerekmektedir. Proteinler primer, sekonder, tersiyer ve kuaterner yapıya sahiptir.

1.2.1.1. Primer (birincil) yapı

Tüm amino asit birimlerinin zincir şeklinde peptit bağlarıyla bir araya gelmesiyle oluşan yapı primer yapı adıyla anılır. Bu bağlanma sırasında ardışık amino asitlere ait α -karbonları neredeyse her zaman trans şeklinde sıralanırlar. Peptit bağındaki C ve N atomları ise bağ yapısı çift bağ karakterli olduğu için aynı düzlemde yer alır. Bundan dolayı, 1951 yılında Linus Pauling tarafından bu bağa “trans-düzlemsel peptit bağı” ismi verilmiştir (Eckersall 2008).

Primer yapı, proteinin açık bir şekilde tanımlanmasını sağlar ve aynı zamanda proteinin fiziksel ve biyolojik özelliklerini belirler. Primer yapının genel bir gösterimi Şekil 1.5’te verilmektedir.



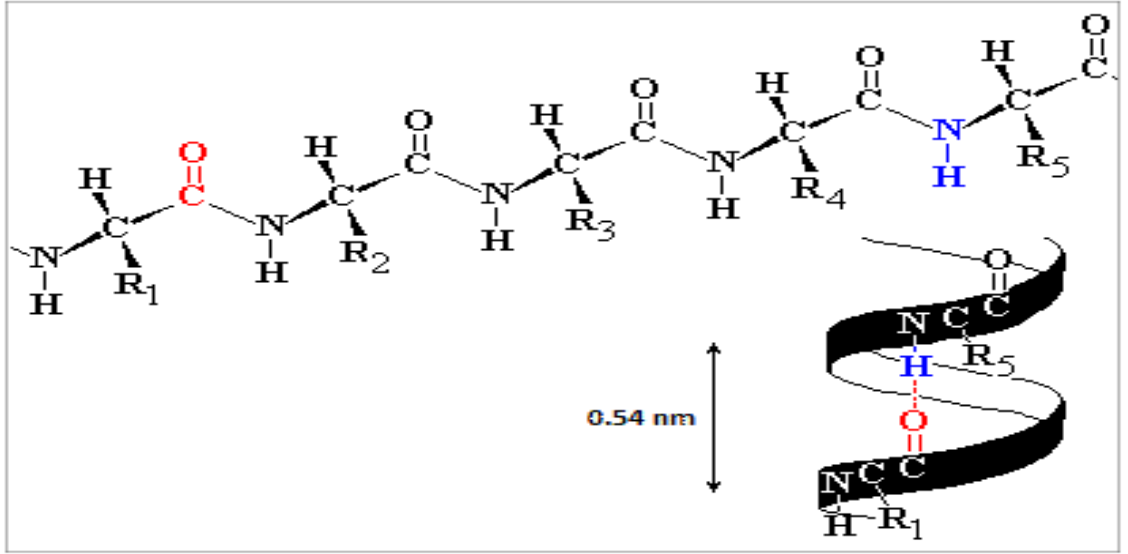
Şekil 1.5. Primer yapı

1.2.1.2. Sekonder (ikincil) yapı

Sekonder yapı, polipeptit zincirinin üzerindeki amino asit birimlerinin birbirlerine olan uzaklık ilişkisi veya bölgesel şekil farklılıkları ile oluşturdukları alt yapıdır. Çoğunlukla protein yapısının üç boyutlu hali olarak anılır (Geraldine ve Takeuchi 2011).

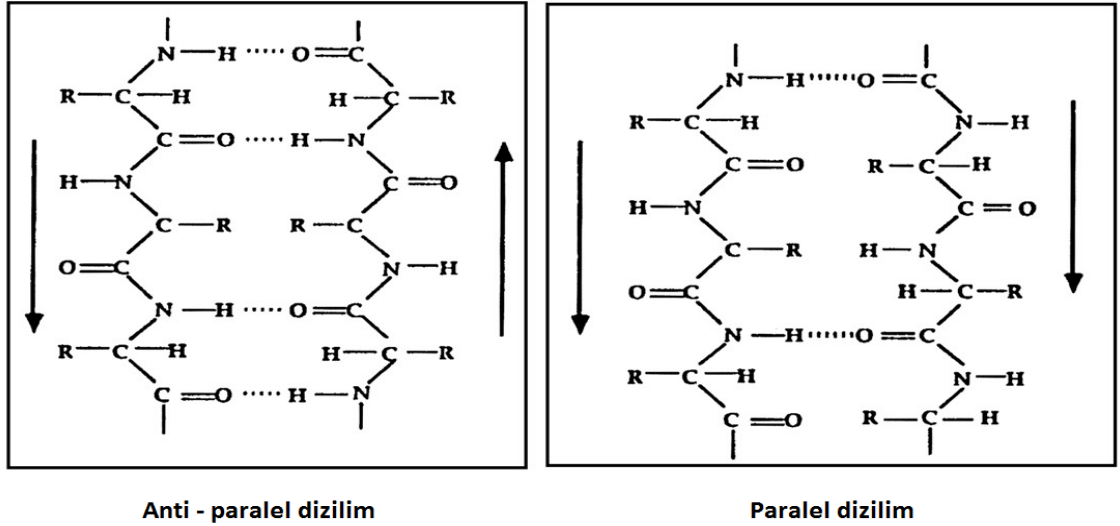
300'den fazla protein molekülünün X-ışını kristalografisi ile 3 boyutlu yapıları belirlenmiştir. Bu proteinlerin sekonder yapılarının α -heliks, β -tabaka ve rastgele-dönme yapılarını içermesi dikkat çekmiştir (Eckersall 2008).

α -Heliks yapı, en çok tanımlanan ve en sık rastlanan sekonder yapıdır. Globüler proteinlerin % 30'luk kısmında bu yapıya rastlanır. α -Heliks yapı, 4 veya daha fazla ardışık amino asitin aynı konformasyonu alarak polipeptit zinciri üzerinde bir heliks oluşturmasıdır. Bu heliks yapı bir amino asit zincirindeki C=O grubunun, 4 birim uzaklıktaki N-H grubu ile hidrojen bağı kurmasıyla meydana gelir ve her 0,54 nm'de bir tekrar eder (Bkz. Şekil 1.6) (Geraldine ve Takenuchi 2011).



Şekil 1.6. α -Heliks yapı

β -Tabakalı yapıdaki kararlılık iki farklı tabakanın birbirlerine yakın hale gelmesi sonucu oluşan hidrojen bağlarından kaynaklanmaktadır. İki farklı tabakanın yan yana gelmesi ile paralel veya anti-paralel yapı oluşmaktadır (Pincus 2012). β -Tabakalı yapıdaki anti-paralel ve paralel dizilimler Şekil 1.7’de gösterilmektedir.



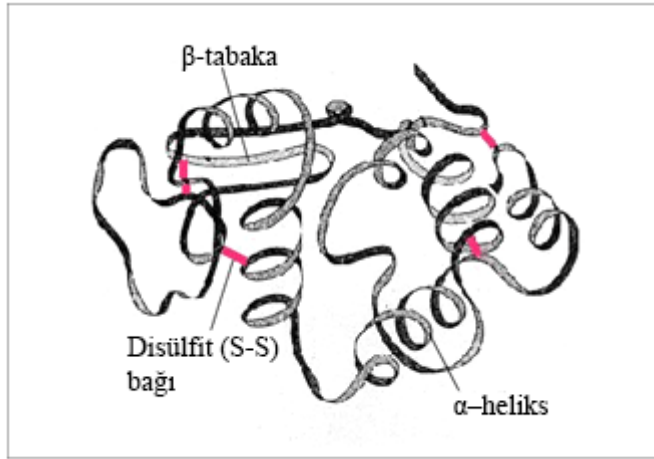
Şekil 1.7. β -Tabakalı yapı

Diğer bir sekonder yapı ise, rastgele dönmedir. Bu yapıda polipeptit zinciri yönünü değiştirir. Rastgele dönmenin olabilmesi için en az 2 amino asit biriminin,

1'den 4'e kadar farklı amino asit birimleriyle, birbirinden ayrılmış olması gerekir. Dönme yapıyı oluşturan iki amino asit birbirinden 4 birim ile ayrılmışsa β -dönme, 3 birim ile ayrılmışsa γ -dönme, 2 birim ile ayrılmışsa δ -dönme ve tek birim ile ayrılmışsa π -dönme olarak isimlendirilir (Cozzone 2010).

1.2.1.3. Tersiyer (üçüncül) yapı

Tersiyer yapı, polipeptit zincirinin sarmal yapı oluşturarak ve sekonder katlanmalar gerçekleştirerek globüler şekil aldığı yapıdır. Tersiyer yapı esas olarak ikincil yapıdaki α -helikslerin ve β -tabakaların birleşerek bir veya birden fazla bölüm oluşturmasıdır (Bkz. Şekil 1.8) (Cozzone 2010).



Şekil 1.8. Tersiyer yapı

Katlanma hareketinin kaynağı, ara zincirler arasındaki etkileşimlerdir. Tersiyer yapının kararlılığını sağlayan bu etkileşimler disülfid bağları, hidrofobik etkileşimler, elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları ve van der Waals etkileşimleridir.

Disülfid bağları, iki yakın sistein biriminin tiyol grupları arasında oluşmaktadır. Hidrojen bağları, α -heliks ve β -tabakalı yapılardaki amino asitlerin yan grupları arasında oluşmaktadır. Hidrofobik/hidrofilik etkileşimler, suda çözünür proteinlerin katlanma yaparak hidrofobik yan zincirlerini dış yüzeye çıkarması ve hidrofobik yan zincirlerini ana zincir içerisine gömmesiyle gerçekleşir (Geraldine ve Takeuchi 2011).

Ortalama bir bölüm yaklaşık 100-150 amino asit birimi içermektedir. Bu da yaklaşık 2,5 nm çapında bir globüldür (Cozzone 2010).

1.2.1.4. Kuaterner (dördüncül) yapı

Yapısal veya metabolik çoğu protein, birden fazla farklı polipeptit zinciri içeren oligomerik proteinlerdir. Kuaterner yapı, aynı veya farklı polipeptit yan zincirlerinin etkileşimleri sonucu oluşur. Kuaterner yapının şematik bir gösterimi Şekil 1.9'da yer almaktadır (Eckersall 2008).



Şekil 1.9. Kuaterner yapı

Kuaterner yapı gösteren proteinlere 4 polipeptit yan zincirinden oluşan hemoglobin örnek olarak verilebilir (Geraldine ve Takeuchi 2011).

Polipeptit zincirinin kuaterner yapısı oligomerik proteinlerin işlevleri açısından kritik öneme sahiptir. Öyle ki, kuaterner yapı bozulursa proteinlerin aktiviteleri de kaybolmaktadır (Cozzone 2010).

1.2.2. Proteinlerin sınıflandırılması

Proteinler, şekil ve çözünürlüklerine göre iki gruba ayrılırlar:

- **Fibröz proteinler:** Çubuk şeklinde proteinlerdir. Suda çözünmezler. Kolajen bu proteinlere bir örnektir.

- **Globüler proteinler:** Küresel şekildeki proteinlerdir. Amino asit dizilişlerinden dolayı (hidrofobik kısımlar içeride, hidrofilik kısımlar dışarıda olacak şekilde) suda çözünür. Miyogloblin bu proteinlere bir örnektir (Geraldine ve Takeuchi 2011).

Proteinler yapı bakımından üç gruba ayrılırlar:

- **Basit proteinler:** Sadece amino asit içeren proteinlerdir. Albumin, bu proteinlere bir örnektir.
- **Konjüge proteinler:** Protein olmayan bir grup içerirler. Glikoproteinler bu gruba örnek verilebilir.
- **Türev proteinler:** Fiziksel veya kimyasal değişime uğramış proteinlerdir (denatüre proteinler gibi).

Globüler proteinler, sekonder yapılarına göre 4 gruba ayrılırlar:

- **Tüm alfa:** Sadece α -heliks yapı içeren proteinler (Miyogloblin).
- **Tüm beta:** Sadece β -tabakalı yapı içeren proteinler (Tenasin).
- **Alfa/beta:** Sekonder yapılarında değişken α -heliks ve β -tabakalı yapı bulunduran proteinler (Tirioz, fosfat, izomeraz).
- **Alfa + beta:** Sekonder yapılarında α -heliks ve β -tabakalı yapı bölgeleri içeren proteinler (Ribonükleaz A) (Cozzone 2010).

1.2.3. İnsan serum albumin (HSA) proteini

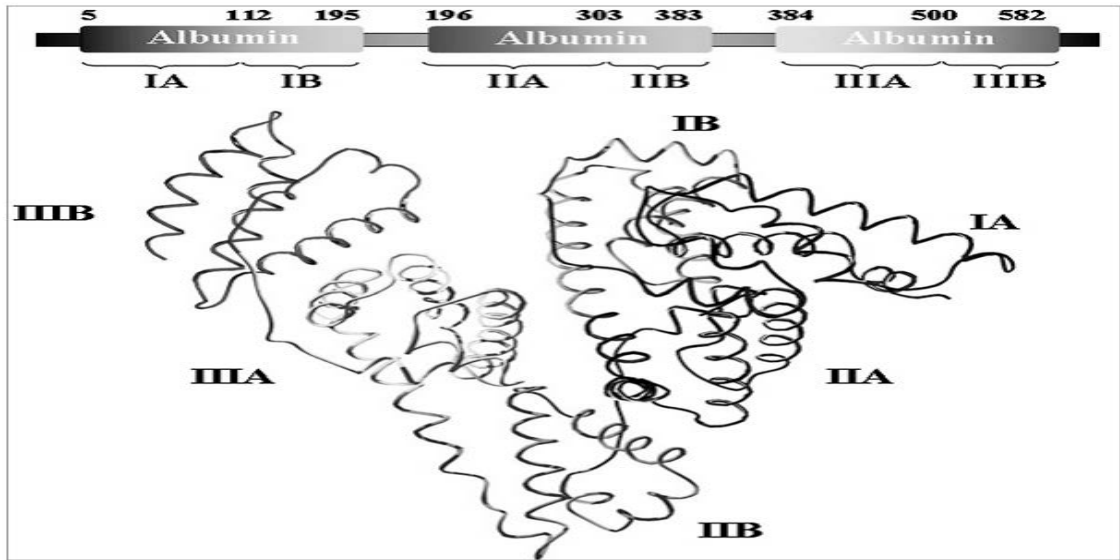
İnsan serum albumin (HSA) proteini, insan plazmasında en yaygın bulunan makromoleküldür. Kanda bulunan proteinlerin % 60'nı oluşturur. Plazma basıncının % 70'i albumin proteini tarafından karşılanır. HSA proteini yüksek ligant bağlama kapasitesi ile endojen ve ekzojen bileşikler için taşıyıcı görevi görür. Bu özelliği sayesinde insan vücudunda yağ asitlerini taşıma, bazı toksinleri zararsız kılma ve pek çok ilacın farmokinetik özelliklerini düzenleme gibi çeşitli görevleri yerine getirir (Farrugia 2010).

HSA proteini; kanser, arterit, menopoz sonrası obezite gibi bazı hastalıklar için önemli bir biyo-imleçtir. Ayrıca, bu protein şok, yanık ve travma gibi vakalarda ve çeşitli hastalıkların tedavisinde klinik olarak kullanılmaktadır (Fanali vd 2012).

1.2.3.1. İnsan serum albumin (HSA) proteininin yapısı

HSA, 66.438 Da ağırlığında ve 585 adet amino asit birimi içeren tek bir polipeptit zincirinden oluşan bir plazma proteinidir. HSA proteininin, 214. pozisyonunda tek bir triptofan birimi bulunur. Bu proteinde metiyonin, glisin ve izolösin amino asitlerinin kalıntıları az miktarda iken, sistein, lösin ve glutamin amino asitlerinin birimleri yaygındır. HSA proteininde, 17 disülfid köprüsü oluşturan 35 sistein birimi yer alır. Disülfid bağları, HSA'nın kararlı bir yapı oluşturmasına katkıda bulunurken, 28-36 günlük uzun bir ömre sahip olmasını sağlar (Fanali vd 2012).

HSA'nın sekonder yapısında α -heliks yapılar hakimdir. HSA proteini, Şekil 1.10'da görüldüğü üzere 3 benzer bölümden oluşan kalp şeklinde bir konformasyona sahiptir. Her bölümün A ve B olmak üzere iki alt bölümü bulunur (IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB) (Fanali vd 2012).

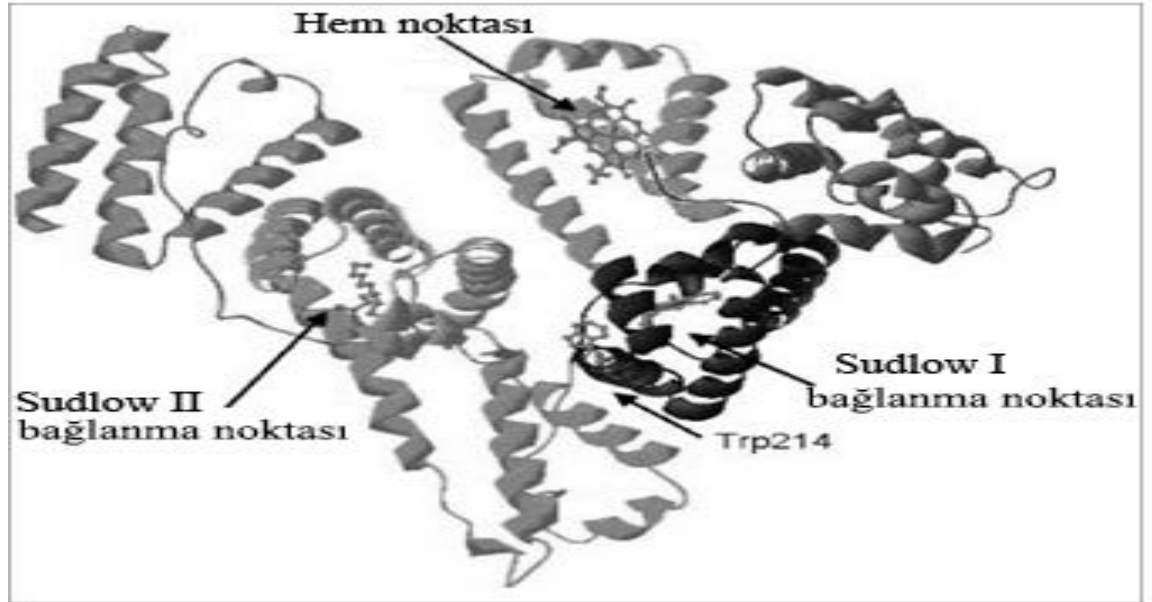


Şekil 1.10. İnsan serum albumin (HSA) proteininin yapısı

1.2.3.2. İnsan serum albumin (HSA) proteininin üzerindeki bağlanma noktaları

HSA, ligantlar için 2 majör bağlanma noktası içerir. Bunlara Sudlow I ve Sudlow II bağlanma noktaları denir.

Sudlow I bağlanma noktası, aynı zamanda warfarin–azapropazon noktası olarak da isimlendirilir ve zincirdeki tek triptofan (Trp-214) içeren IIA alt bölgesinde bulunur. Sudlow II bağlantı noktası ise indol-benzodiazepin noktası olarak da isimlendirilir ve iki önemli amino asit biriminin (Arg-410 ve Try-411) bulunduğu IIIA alt bölgesinde yer alır (Bkz. Şekil 1.11) (Fanali vd 2012).



Şekil 1.11. HSA proteinindeki Sudlow bağlanma noktaları

1.3. Pestisitler

İnsanlar için tehdit olarak algılanan başta hayvanlar olmak üzere tüm canlılar zararlı (pest) olarak tanımlanır. Bu zararlı organizmaları yok etmek veya gelişmelerini engelleme amacıyla kullanılan maddelere ise pestisit denir.

Pestisitler kimyasal veya biyolojik ajanlardır. Pestisitler genelde hedef kimyasal sınıflarına, hedef organizmalarına, etki mekanizmalarına ve uygulama zamanlamasına göre 4 grupta incelenir (Güler ve Çobanoğlu 1997).

1.3.1. Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitler hedef organizmalara göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (Güler ve Çobanoğlu 1997):

1. Algisit: Algilere karşı kullanılır.
2. Bakterisit: Bakterilere karşı kullanılır.
3. Avisit: Kuşlara karşı kullanılır.
4. Desikant: Yabani otlara karşı kullanılır.
5. Fungisit: Mantarlara karşı kullanılır.
6. Herbisit: Bitkilere karşı kullanılır.
7. İnsektisit: Böceklerle karşı kullanılır.

Pestisitler etki mekanizmalarına göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır (Güler ve Çobanoğlu 1997):

1. Geniş ölçek: Geniş ölçekle çoğu zararlı öldürülebilir.
2. Temas anında zehir: Zararlıyı temas anında öldürür.
3. Dezenfektan: Zararlı bulaşmış ise etkilidir.
4. Sinir zehiri: Sinir sistemini etkileyerek zararlıya zarar verir.
5. Mide zehiri: Hayvanları sindirme sonrası öldürerek zarar verir.

Pestisitler uygulama zamanlarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (Güler ve Çobanoğlu 1997):

1. Tohum uygulaması: Tohum tarafından absorbe edilen pestisitler.
2. Ekim öncesi: Ekim öncesi kullanılan pestisitler.
3. Ekim sırasında: Ekim sırasında kullanılan pestisitler.

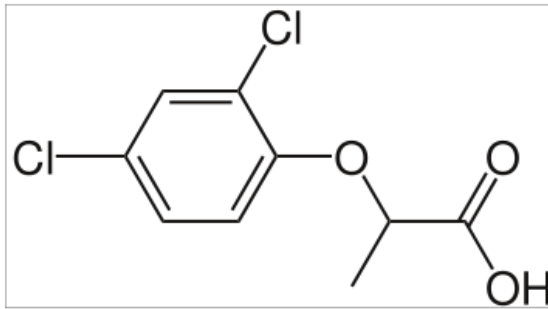
4. Tohum saçarken: Toprak yüzeyine uygulanan pestisitler.
5. Hasat sonrası: Ürün hasatından sonra uygulanan pestisitler.

1.3.2. Diklorprop (DCP)

Diklorprop (2-(2,4-diklorofenoksi) propiyonik asit), klorofenoksi türü, yabancı otlara karşı kullanılan bir herbisittir. Diklorprop (DCP), ticari olarak ester veya tuz formunda satılmaktadır (www.epa.gov).

DCP'nin etki mekanizmasının hücre duvarı elastikliğini, protein sentezini ve etilen üretimini artırması şeklinde olduğu düşünülmektedir. Bu işlemlerin sıklıkla gerçekleşmesi hücre gelişimi ve bölünmesinde anormal artışa neden olmakta ve vasküler dokuya zarar vermektedir (Bradbury 2007).

DCP, az toksik bir madde olarak sayılmaktadır. Farelerde yapılan deneylerde bu herbisitın LD₅₀ (test edilen popülasyonun yarısını öldürmek için gerekli doz) dozunun 537 mg/kg olduğu belirlenmiştir (www.epa.gov). DCP'nin kimyasal yapısı Şekil 1.12'de gösterilmektedir.



Şekil 1.12. Diklorprop (DCP)'un kimyasal yapısı

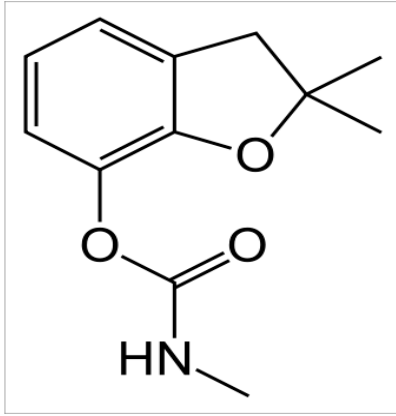
1.3.3. Karbofuran (CF)

Karbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-il metilkarbammat) karbammat türü, böcek ve nematolara karşı kullanılan geniş spektrumlu bir insektisittir (Plangklang ve Reungsang 2009). Karbofuran (CF)'ın sudaki çözünürlüğü oldukça yüksektir (25 °C

sıcaklıkta 0,7 g/L'dir) (Lu vd 2011). Diğer karbamat bileşikler gibi CF'nin etki mekanizması asetilkolinesteraz (AChE) inhibasyonudur. Karbofurana bağlı zehirlenme belirtileri arasında, kramp, baş dönmesi ve kusma yer almaktadır.

CF için LD₅₀ değeri 5-13 mg/kg (fare) olarak tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalara göre ölümcül dozlarının altında CF, omurgalıların çeşitli sistemlerine zarar vermektedir (Lu vd 2011).

CF'nin kullanımı tüm bu bahsedilen sebeplerden ötürü merccek altına alınmıştır. Bazı ülkelerde kullanımı yasalarla engellenmiştir. CF'nin kimyasal yapısı Şekil 1.13'te yer almaktadır (Fan ve Alexeeff 2000).



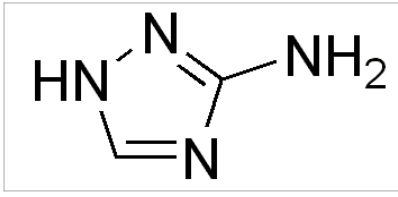
Şekil 1.13. Karbofuran (CF)'in kimyasal yapısı

1.3.4. Amitrol (AR)

Amitrol (AR), amino-triazol olarak da bilinen heterosiklik organik bileşiktir. AR, bir sistemik triazol herbisittir. AR'nin etki mekanizması HIS3 geninin ürünü olan imidazolegliserol-fosfat dihidrataz (IGPD) enziminin inhibasyonu ile gerçekleşmektedir (Joung vd 2000).

IGPD, histidin üretiminin altıncı basamağını katalizleyen bir enzimdir. Sadece bitkilerde bulunup hayvanlarda bulunmaması IGPD'nin hedef olarak alınıp herbisit üretilmesine olanak vermektedir.

AR'nin kanserojenik olması sebebiyle gıda amaçlı tarımda kullanılması EPA tarafından 1979 yılında yasaklanmıştır (Li vd 2009a). AR'nin akut toksisitesi, insanlar ve hayvanlar için oldukça düşüktür. Araştırmalara göre fareler için LD₅₀ dozu 15000 mg/kg'dır (Sherif vd 2007). Amitrol'e uzun süre maruz kalan omurgalıların karaciğer ve dalağında tümör oluşumları gözlenmiştir. Amitrol'un kimyasal yapısı Şekil 1.14'te gösterilmektedir (Mert vd 2012).



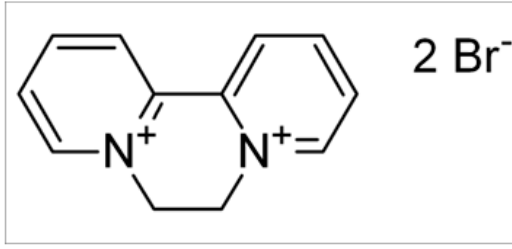
Şekil 1.14. Amitrol (AR)'un kimyasal yapısı

1.3.5. Dikuat (Dikuat dibromür) (DQ)

Dikuat (1,1'-etilen-2,2'-bipiridilyum dibromür), dikuat dibromür olarak da bilinen seçici olmayan bir herbisittir (www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

Dikuat'ın etki mekanizmasının, ilacın metabolize olmasının ardından oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROT) bitki dokularına zarar vermesi sonucu, bitkide oluşan desikasyon ve defolasyon olduğu tahmin edilmektedir (Diaz vd 2002).

DQ'nun akut toksisitesinin orta seviyede olduğu kabul edilmektedir. Fareler üzerinde yapılan deneyler sonucu DQ'nun LD₅₀ değeri 215 mg/kg olarak bulunmuştur (Fussell vd 2011). DQ'ya uzun süre maruz kalınması sonucu, akciğer, karaciğer, böbrek ve merkezi sinir sistemi dokularında hasar gözlenmiştir (Diaz vd 2002). DQ'nun kimyasal yapısı Şekil 1.15'te verilmektedir.



Şekil 1.15. Dikuat (DQ)'ın kimyasal yapısı

1.4. Proteinler ile Pestisitler Arasındaki Etkileşimlerin Önemi

Serum albumin, dolaşım sistemindeki en yaygın protein olması ve yapısının tam olarak aydınlatılması nedeniyle üzerinde en çok çalışılan proteinlerden birisidir. Yağ asitleri için majör transfer proteini olmasına karşın, olağanüstü bağlanma özellikleri nedeniyle vücuda giren çeşitli moleküllerin hedefi olmaktadır (Han vd 2012).

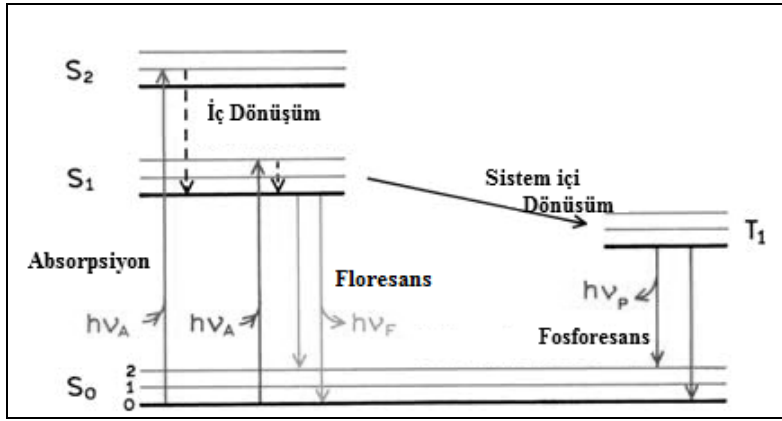
Tarım zararlılarını kontrol etmek amacıyla pestisit kullanımı günden güne artmaktadır. Ana pestisitlerin ve yan ürünlerinin uzun süre toprakta, doğal sularda, yeraltı sularında ve çevrede birikmeleri, bu kimyasal maddeleri potansiyel tehdit haline getirmektedir (Buss ve Callaghan 2008).

Proteinler ile pestisitlerin arasındaki etkileşimlerin incelenmesi ile birlikte bu maddelerin insan vücudundaki etki mekanizmaları, bağlanma noktaları ile ilgili bilgiler elde edilebilmektedir. Bu tür çalışmalardan elde edilen sonuçlar, pestisitlerin zararları konusunda bilgi edinilmesine ve yeni pestisit tasarımları üzerine çalışmalar yapılmasına olanak sağlanmaktadır (Cui vd 2008).

1.5. Floresans Spektroskopisi

Yüklü olan bir parçacık, elektromanyetik bir dalga olan ışık ile temas ettiğinde ışığın elektrik alanından enerji absorplama yeteneğindedir. Elektron temel halde iken enerji absorpladığında daha yüksek bir enerji seviyesi olan uyarılmış hale geçer. Parçacığın, elektromanyetik ışın yayarak uyarılmış halden temel hale dönmesine lüminesans denir.

Bir molekölün enerji kaynağı olarak ultraviyole veya görünür fotonlarla uyarılması sonucu lüminesans yapmasına fotolüminesans, lüminesans yapan moleküle de florofor denir. Fotolüminesans, uyarılmış halin elektron dizilimine göre floresans ve fosforesans olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Uyarılma zinciri sırasında oluşan işlemler Polonyalı bilim adamı olan Alexander Jablonski tarafından Jablonski Diyagramı'nda belirtilmiştir. Jablonski diyagramı Şekil 1.16'da gösterilmektedir (Jain vd 2009).



Şekil 1.16. Jablonski diyagramı

Işık absorpsiyonu sonrası florofor madde genelde S₁ veya S₂ gibi bir titreşim seviyesine uyarılır (Bkz. Şekil 1.16). Birkaç istisna haricinde moleküller hızla S₁'in en düşük titreşim seviyesine düşer. Bu işleme iç dönüşüm denir ve genellikle 10^{-12} saniye gibi kısa bir sürede gerçekleşir (Lakowicz 1999). İç dönüşümde ışınım olmadığı için uyarılma enerjisi ısı enerjisi olarak dağılır. Floresans emisyonu, bu ısıl dengeye gelmiş olan S₁ halinin en düşük titreşim seviyesinden temel hale dönmesi sırasında gerçekleşir. S₁ seviyesindeki moleküller spin yönünü değiştirerek ilk triplet haline (T₁) geçebilirler. T₁ halinden temel hale dönme sırasındaki emisyonu fosforesans emisyonu denir (Jain vd 2009).

Emisyon spektrumu ile absorpsiyon spektrumu arasında enerji farkı vardır. Bunun sebebi, moleköl tarafından absorplanan enerjinin bir kısmının iç dönüşüm sırasında kaybolmasıdır. Emisyon enerjisinin absorpsiyon enerjisinden az olması, emisyon spektrumunun daha büyük dalga boylarına kaymasına neden olur. Bu durum "Stokes Kayması" olarak bilinir (Krishnamoorthy 2003).

Spektroskopi, madde ve ışığın etkileşimini inceleyen bilim dalıdır. Floresans spektroskopisi ise spektroskopinin bir alt dalı olup, özellikle biyokimyasal ve biyofiziksel çalışmalarda kullanılan hassas ve seçici bir analitik yöntemdir. İncelenen molekül, floresans emisyonu yapıyorsa (florofor) molekülün konsantrasyonu floresans şiddetinden hesaplanabilir (Lakowicz 1999).

Biyolojik floroforlar, dışsal ve içsel olarak iki grupta incelenebilir. İçsel floroforlar doğal olarak floresans emisyonu yaparlar. Tirozin, triptofan ve fenilalanin amino asitleri bu gruba örnek olarak gösterilebilir. Protein floresansı bu kalıntıların mikroçevrelerine bağlıdır. Dolayısı ile protein-protein etkileşimleri, ligant ve çeşitli moleküllerin proteinlere bağlanmaları ve protein konsantrasyonları floresans spektroskopisi ile yaygın olarak incelenmektedir (Jain vd 2009).

Dışsal floroforlar doğal hallerinde floresans emisyonu yapmazlar. Bu moleküller incelenmek istendiğinde, söz konusu moleküle florofor bir yan grup eklenmesi ile molekülün floresans emisyonu yapması sağlanır. Bu sayede hücrelerde görüntüleme ve nitelendirme gibi işlemler kolaylıkla yapılabilmektedir (Albani 2007).

1.6. Araştırmanın Amacı

İnsan serum albumin (HSA) proteini ile diklorprop (DCP), karbofuran (CF), amitrol (AR) ve dikuat (DQ) pestisitleri arasındaki etkileşimleri floresans spektroskopisi ile incelenmek ve etkileşim gösteren HSA-pestisit sistemleri için bağlanma sabiti, bağlanma sayısı ve termodinamik parametre değerlerini belirlemektir.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

2.1. Serum Albumin Proteini ile Pestisitler Arasındaki Etkileşimlerin İncelenmesi Konusunda Literatürde Yapılan Çalışmalar

Wang vd (2009), HSA proteini ile bir herbisit olan pentaklorofenol (PCP) etkileşimini spektroskopik yöntemler kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada, HSA proteini ile PCP herbisiti arasında bir etkileşim meydana geldiği gözlenmiş ve van't Hoff eşitliği kullanılarak bu etkileşime ilişkin çeşitli termodinamik parametreler hesaplanmıştır. Entalpi değişimi (ΔH) $9,39 \text{ kJ.mol}^{-1}$, entropi değişimi (ΔS) $132,21 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ve serbest enerjideki değişim (ΔG) $-28,85 \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Serbest enerjideki değişimin negatif olması, HSA proteini ile PCP maddesi arasındaki etkileşimin kendiliğinden gerçekleştiğini ifade etmektedir. Entropi ve entalpi değişiminin pozitif olması, HSA ile PCP arasındaki etkileşimin temelinde hidrofobik etkileşimin olduğunu göstermektedir. Oluşan HSA-PCP kompleksi ile HSA proteininin doğal floresans şiddeti sönümlenmiştir. Ayrıca, senkronize floresans spektroskopisi ölçümlerinde, PCP maddesinin HSA proteinindeki tirozin ve triptofan amino asitleri kalıntılarının mikroçevrelerinde değişime neden olduğu görülmüştür (Wang vd 2009).

Li vd (2009b), sıkça kullanılan bir fungusit olan tiyofanat metil (MT) maddesinin HSA proteinine bağlanmasını, spektroskopik yöntemler kullanarak incelemiştir. Fizyolojik koşullar altında gerçekleştirilen çalışmada, MT maddesinin güçlü bir sönümleyici olduğu ve HSA proteininin moleküler konformasyonunu değiştirdiği sonucu ortaya çıkmıştır. Elde edilen termodinamik parametrelerden yola çıkılarak, MT maddesinin HSA proteinine bağlanması olayının kendiliğinden ve hidrofobik etkileşimler sonucu gerçekleştiği anlaşılmıştır (Li vd 2009b).

Han vd (2009), yeni nesil pestisitlerden biri olan quinklorak (QUC) ile sığır serum albumin (BSA) proteini arasındaki etkileşimi incelemiştir. Deneysel çalışmalardan elde edilen veriler, QUC maddesinin BSA proteini ile etkileşime girdiğini ve etkileşimin BSA proteininin konformasyonel yapısında bir değişikliğe neden olduğunu göstermiştir. Çalışmada, van't Hoff eşitliği kullanılarak BSA-QUC

sistemine ait termodinamik parametreler belirlenmiştir. Sistemin entalpi değişimi -44,22 kJ.mol⁻¹, entropi değişimi -68,87 J.mol⁻¹.K⁻¹ ve Gibbs serbest enerji değişimi -23,99 kJ.mol⁻¹ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan, BSA proteini ile QUC arasındaki etkileşimin kendiliğinden gerçekleştiği ve esas bağlama kuvvetlerinin hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetleri olduğu anlaşılmıştır (Han vd 2009).

Ding vd (2010a), HSA proteini ile geniş yapraklı otlarla mücadelede sıklıkla kullanılan herbisitlerden biri olan metsülfüron-metil (MTS) maddesi arasındaki etkileşimi araştırmışlardır. Deneysel çalışmalar, MTS maddesi ile etkileşimden sonra HSA proteininin sekonder yapısında bir değişimin meydana geldiğini göstermiştir. Elde edilen verilerden, Stern-Volmer eşitliği kullanılarak sönmüleme sabiti (K_{SV}) hesaplanmış ve HSA proteininin doğal floresansının MTS maddesi tarafından statik sönmüleme mekanizmasına uygun olarak sönmülendiği anlaşılmıştır. Ayrıca, sistem için van't Hoff eşitliği kullanılarak termodinamik parametreler hesaplanmış, entropi değişimi 60,96 J.mol⁻¹.K⁻¹ ve entalpi değişimi -11,23 kJ.mol⁻¹ olarak bulunmuştur (Ding vd 2010a).

Zhang vd (2007), geniş spektrumlu bir herbisit olan paraquat maddesinin HSA proteini ile olan etkileşimini, floresans spektroskopisi ve UV/Vis absorpsiyon spektroskopisi yöntemlerini kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada, HSA-paraquat sistemine ait sönmüleme ve bağlanma sabiti değerleri ile termodinamik parametreler hesaplanmıştır. Hesaplanan Stern-Volmer sönmüleme sabiti değerlerinin, sıcaklık arttıkça azalması, paraquat maddesinin HSA proteininin doğal floresans şiddetini statik sönmüleme mekanizmasına uygun olarak sönmülediğini ortaya koymuştur. HSA-paraquat sistemine ait entalpi değişimi -6,710 kJ.mol⁻¹ ve entropi değişimi 64,849 J.mol⁻¹.K⁻¹ olarak bulunmuştur. Gibbs serbest enerji değişim değerleri 4 farklı sıcaklık değeri için -25,386 ile -26,748 kJ.mol⁻¹ aralığında değişmiştir (Zhang vd 2007).

Ding vd (2010b), yabancı otlarla mücadelede kullanılan bensülfüron-metil (BM) maddesinin HSA proteini ile olan etkileşimini, floresans spektroskopisi, UV/Vis absorpsiyon spektroskopisi ve dairesel dikroizm (CD) spektroskopisi yöntemlerini kullanarak incelemiştir. Deneysel sonuçlar, HSA proteini ile BM

maddesi arasında bir etkileşimin meydana geldiğini göstermiştir. BM maddesi, HSA proteininin konformasyonel yapısında bir değişime neden olmuş ve proteine ait doğal floresans şiddetini sönmülemiştir. Deneysel veriler kullanılarak Stern-Volmer eşitliği ile farklı sıcaklıklar için Stern-Volmer sönmüleme sabiti değerleri hesaplanmıştır. Hesaplanan sönmüleme sabitlerinin sıcaklık artışı ile azalması, sönmüleme mekanizmasının dinamik sönmüleme yerine, HSA-BM kompleksinin oluşmasından kaynaklanan statik sönmülemeyle olduğunu göstermiştir. Van't Hoff eşitliği kullanılarak sisteme ait entalpi değişimi $-20,50 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve entropi değişimi $10,40 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Serbest enerjideki değişim ise $18 \text{ }^\circ\text{C}$, $24 \text{ }^\circ\text{C}$, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ve $36 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de sırasıyla $-23,51 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-23,72 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-23,45 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve $-23,82 \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Ding vd 2010b).

Zhang vd (2009), sığır serum albumin (BSA) proteini ile bakterisit olarak kullanılan tradimefon (TDF) maddesi arasındaki etkileşimi floresans spektroskopisi yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar, TDF maddesinin, BSA proteininin doğal floresans şiddetini sönmülediğini göstermiş ve sönmüleme mekanizması statik sönmüleme olarak belirlenmiştir. BSA-TDF sistemi için entalpi değişimi $-2,617 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve entropi değişimi $78,60 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Serbest enerjideki değişim ise $25 \text{ }^\circ\text{C}$, $31 \text{ }^\circ\text{C}$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ve $43 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de sırasıyla $-26,04 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-26,51 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-26,98 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve $-27,45 \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar ışığında, BSA-TDF etkileşiminin kendiliğinden ve elektrostatik kuvvetlerin yürütücülüğünde gerçekleştiği bulunmuştur (Zhang vd 2009).

Ni vd (2008), BSA proteini ile izokarb maddesi ve sodyum 2-izopropilfenat maddesi arasındaki etkileşimleri, spektroskopik yöntemler kullanarak incelemişlerdir. Elde edilen verilerden, Stern-Volmer eşitliği kullanılarak sönmüleme sabitleri ve van't Hoff eşitliği kullanılarak termodinamik parametreler hesaplanmıştır. Her iki sistem için de serbest enerjideki değişimin negatif olması, etkileşimin kendiliğinden gerçekleştiğinin anlaşılmasını sağlamıştır. BSA-izokarb sistemi için entalpi değişimi $-102,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve entropi değişimi $-248 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak bulunurken, BSA-2-izopropilfenat sistemi için entalpi değişimi $-23,1 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve entropi değişimi $46,3 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak elde edilmiştir (Ni vd 2008).

Ding vd (2009), pirazosülfüron (PY) maddesinin insan serum albumin proteini ile olan etkileşimini spektroskopik yöntemler kullanarak araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre PY maddesi, HSA proteininin doğal floresans şiddetini sönmülemiştir. Çalışmada, Stern-Volmer eşitliği kullanılarak sönmüleme sabiti hesaplanmış ve sönmülemenin, statik sönmüleme mekanizmasına göre gerçekleştiği belirlenmiştir. Termodinamik eşitliklerden, entropi değişimi $-35,91 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ve entalpi değişimi $-36,32 \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Negatif ΔS değeri ve negatif ΔH değeri, PY maddesi ile HSA proteini arasındaki bağlanma reaksiyonunda, yürütücü kuvvetlerin hidrojen bağı ve van der Waals etkileşimleri olduğunu göstermiştir. Hesaplanan bir başka termodinamik parametre olan Gibbs serbest enerjisi değişim değeri, $18 \text{ }^\circ\text{C}$, $24 \text{ }^\circ\text{C}$, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ve $36 \text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıklar için sırasıyla $-25,88 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-25,64 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-25,39 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve $-25,25 \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Negatif ΔG değerleri, bağlanma reaksiyonunun kendiliğinden gerçekleştiğini belirtmiştir (Ding vd 2009).

Xu vd (2007), organofosfor türü pestisit olan fentoat maddesi ile BSA proteini arasındaki etkileşimi spektroskopik yöntemler kullanarak araştırmışlardır. Van't Hoff eşitliği kullanılarak BSA-fentoat sistemi için ΔH ve ΔS değerleri sırasıyla $-25,04 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve $168,94 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak bulunmuştur. $30 \text{ }^\circ\text{C}$, $33 \text{ }^\circ\text{C}$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ve $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de ΔG değerleri sırasıyla $-76,23 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-76,73 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $-77,41 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve $-77,92 \text{ kJ.mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Negatif ΔG değerleri, BSA-fentoat etkileşiminin kendiliğinden gerçekleştiğini göstermiştir (Xu vd 2007).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada pestisit olarak diklorprop, karbofuran, amitrol ve dikuat kullanılırken, protein olarak insan serum albumin proteini kullanılmıştır. Pestisitler için kullanılan kısaltmalar ve molekül kütleleri Çizelge 3.1’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan pestisitlerin kısaltmaları ve molekül kütleleri

Pestisit	Kısaltma	Molekül kütlesi (g/mol)
Diklorprop	DCP	235,06
Karbofuran	CF	221,25
Amitrol	AR	84,08
Dikuat	DQ	362,06

Çözeltilerin iyonik şiddetini ayarlamak ve pH değerini fizyolojik pH’ta (7,4’te) sabit tutmak için sırasıyla NaCl tuzu ve tris(hidroksimetil)aminometan tampon maddesi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan tüm pestisitler, albumin proteini ve diğer kimyasallar Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır.

Spektrofotometrik ölçümlerde, sıcaklık kontrollü Varian marka Cary Eclipse model floresans spektrofotometre ve Varian marka Cary 5000 model UV/Vis/NIR spektrofotometre cihazları kullanılmıştır. Tartımlar 0,1 mg hassasiyette Mettler marka ML204/01 model analitik hassas terazide alınmıştır. Çözeltilerin pH değerleri Jenway marka 3040 Ion Analyzer model potansiyometreye bağlı kombine cam elektrot ile ölçülerek kontrol edilmiştir. Ayrıca, deneysel çalışmalarda deiyonize su kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Protein, pestisit ve protein-pestisit karışım çözeltilerinin hazırlanması

Protein-pestisit etkileşim çalışmalarında kullanılmak üzere ilk olarak 2×10^{-5} M'lık stok HSA, 5×10^{-4} M'lık stok CF ve 1×10^{-3} M'lık stok DCP, DQ ve AR çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra hazırlanan stok HSA ve stok pestisit çözeltileri kullanılarak her bir HSA-pestisit (HSA-DCP, HSA-CF, HSA-DQ, HSA-AR) sistemi için HSA-pestisit karışım çözeltileri, saf HSA çözeltisi ve saf pestisit çözeltileri hazırlanmıştır.

HSA-pestisit karışım çözeltilerinde HSA konsantrasyonu 2×10^{-6} M olarak sabit tutulurken; pestisit konsantrasyonları, her sistem için aynı olmakla birlikte, sırasıyla 1×10^{-6} M, 2×10^{-6} M, 4×10^{-6} M, 6×10^{-6} M, 10×10^{-6} M, 14×10^{-6} M, 18×10^{-6} M, 22×10^{-6} M, 26×10^{-6} M, 30×10^{-6} M, 40×10^{-6} M ve 50×10^{-6} M olacak şekilde arttırılmıştır. Saf protein çözeltisi olarak 2×10^{-6} M'lık HSA kullanılmıştır. Saf pestisit konsantrasyonları da 1×10^{-6} M, 2×10^{-6} M, 4×10^{-6} M, 6×10^{-6} M, 10×10^{-6} M, 14×10^{-6} M, 18×10^{-6} M, 22×10^{-6} M, 26×10^{-6} M, 30×10^{-6} M, 40×10^{-6} M ve 50×10^{-6} M olacak şekilde hazırlanmıştır. Tüm çözeltiler 0,1 M NaCl içeren 0,05 M tris(hidroksimetil)aminometan tampon çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.2. Protein-pestisit etkileşimlerinin incelenmesi

HSA-pestisit etkileşimlerinin incelenmesi amacı ile ilk önce her bir sistem için hazırlanan HSA-pestisit karışım çözeltilerinin, saf HSA çözeltisinin ve farklı konsantrasyonlardaki pestisit çözeltilerinin absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir. Ölçümlerde Varian marka Cary 5000 model UV/Vis/NIR spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Ölçümler, 1 cm'lik ışık yoluna sahip kuartz küvetlerde gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığın HSA-pestisit etkileşimine olan etkisini belirlemek amacıyla 4 farklı sıcaklıkta (288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de) ölçümler kaydedilmiştir. Çözelti sıcaklıklarını istenilen değerlere getirmek amacıyla, cihazdaki sıcaklık kontrol ünitesi kullanılmıştır. Ölçümlerde kullanılacak örneklerin termal dengeye gelmesi amacıyla, küvetler cihaza yerleştirildikten sonra 15 dakika

beklenmiştir. Absorpsiyon ölçümleri 200-600 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

İkinci aşama olarak, her bir sistem için hazırlanan karışım çözeltilerinin ve saf pestisit çözeltilerinin emisyon spektrumları elde edilmiştir. Bu amaçla Varian marka Cary Eclipse model floresans spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Gerekli ısı kontrolü, cihazın bağlı olduğu peltier ünitesi ile sağlanmıştır. Cihazın, slit (yarık) genişliği 5 nm'ye, uyarılma dalga boyu 280 nm'ye ve emisyon dalga boyu 290-500 nm aralığına ayarlanmıştır. Ölçümlere başlamadan önce çözeltilerin termal dengesinin sağlanması için, çözeltiler ilk ölçüm sıcaklığı olan 288,15 K'deki inkübatörde 30 dakika bekletilmiştir. Çözeltiler daha sonra her bir ölçüm için floresans spektrofotometre cihazında istenilen sıcaklıkta (288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de) 15 dakika bekletilmiş ve ölçümler gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada aynı zamanda, HSA proteininin pestisitler ile olan etkileşiminden sonra proteinin triptofan ve tirozin amino asit birimlerinin mikroçevrelerinde oluşan değişimler hakkında bilgi edinmek için, floresans spektrofotometre cihazı kullanılarak HSA-pestisit sistemlerinin senkronize floresans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Ölçümler $\Delta\lambda=15$ nm ve $\Delta\lambda=60$ nm değerlerinde fizyolojik sıcaklık olan 310,15 K'de kaydedilmiştir.

Floresans ölçümlerinde, molekülü uyarmak için gönderilen ışık şiddeti ile floresans şiddeti orantılıdır. Ancak, optik yoğunluğun yüksek olması, çözeltinin akış karakterinin türbülent olması, molekülün veya liganın gönderilen veya yayılan ışığı absorplaması sonucu, gözlemlenen floresans şiddeti azalabilmektedir. Bu durum, iç filtre etkisi olarak tanımlanmaktadır (Lakowicz 2006). Çalışmada, iç filtre etkisinin elde edilen floresans sonuçlarında hataya neden olmaması amacıyla ölçülen floresans değerleri Denklem (3.1)'in kullanılmasıyla düzeltilmiştir.

$$F_{düz} = F_{göz} \times e^{(A_{uy}+A_{em})/2} \quad (3.1)$$

Denklemdaki $F_{düz}$ düzeltilmiş floresans şiddetini, $F_{göz}$ gözlemlenen floresans şiddetini, A_{uy} uyarılma dalga boyundaki absorpsiyonu ve A_{em} emisyon dalga boyundaki absorpsiyonu belirtmektedir.

HSA proteini ile pestisitler arasındaki etkileşimler sonucu proteinin floresans şiddetinin sönümlenmesi, HSA proteini ile ilgili önemli bilgiler vermektedir. Bu sönümlenmenin nedeni moleküler etkileşimlerdir. Sönümlenme olayı dinamik ve statik olmak üzere iki şekilde gerçekleşebilir. Dinamik sönümlenmede; uyarılmış durumda olan molekül, sönümleyicinin teması sonucu emisyon yapmadan temel hale döner. Statik sönümlenmede ise molekül ve sönümleyici floresans yapmayan bir kompleks bileşik oluşturur. Floresans şiddetinin sönümlenme karakteri Denklem (3.2)'de verilen Stern-Volmer eşitliği ile açıklanabilir (Lakowicz 2006).

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (3.2)$$

Denklemdaki F_0 pestisit yokluğunda proteinin floresans şiddetini, F pestisit varlığında proteinin floresans şiddetini, k_q sönümlenme hız sabitini, τ_0 floroforun yarı ömür süresini, $[Q]$ pestisit konsantrasyonunu ve K_{sv} Stern-Volmer sönümlenme sabitini belirtmektedir. 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de yapılan ölçümlerden elde edilen F_0/F değerlerinin $[Q]$ değerlerine karşı grafiğinden Stern-Volmer sönümlenme sabiti değerleri elde edilmiştir.

HSA molekülü üzerindeki pestisit bağlanma yeri sayısı (n) ve bağlanma sabiti (K_b) değerlerinin hesaplanması amacıyla Denklem (3.3) kullanılmıştır.

$$\log\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = n \log K_b - n \log \left[\frac{1}{[Q_t] - (F_0 - F) \cdot [P_t] / F_0} \right] \quad (3.3)$$

Denklemdaki F_0 ve F sırasıyla pestisit yokluğunda ve varlığında protein çözeltisinin floresans şiddetini, $[Q_t]$ çözeltideki toplam pestisit konsantrasyonunu ve $[P_t]$ de ortamdaki toplam protein konsantrasyonunu göstermektedir. 288,15 K, 298,15 K,

310,15 K ve 318,15 K'de gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilen verilerin kullanılmasıyla çizilen $\log(F_0-F)/F$ değerlerine karşı $\log[1/[Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0]$ değerleri grafiğinden yararlanılarak, etkileşim gösteren her bir HSA-pestisit sistemi için K_b ve n değerleri elde edilmiştir (Bi vd 2004).

Proteinler ve ligantlar arasındaki etkileşimler; hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerden, hidrojen bağı oluşumundan ve van der Waals kuvvetlerinden kaynaklanabilmektedir (Ross ve Subramanian 1981). Bu etkileşimleri tanımlamak için gerekli bazı termodinamik parametreler, van't Hoff eşitliğinin (Denklemler (3.4)) kullanılmasıyla belirlenebilmektedir.

$$\ln(K_b) = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (3.4)$$

Denklemlerdeki K_b , T sıcaklığındaki bağlanma sabitini, ΔH entalpi değişimini, ΔS entropi değişimini ve R ideal gaz sabitini belirtmektedir. $\ln(K_b)$ 'ye karşı $1/T$ grafiğinden etkileşim gösteren her bir HSA-pestisit sistemi için ΔH ve ΔS değerleri hesaplanmıştır (Li vd 2007).

Daha sonra, Denklem (3.5)'in kullanılmasıyla Gibbs serbest enerji değişim (ΔG) değerleri belirlenmiştir.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (3.5)$$

Elde edilen termodinamik parametreler ile her bir HSA-pestisit sistemi için bağlanma mekanizmaları açıklığa kavuşturulmuştur.

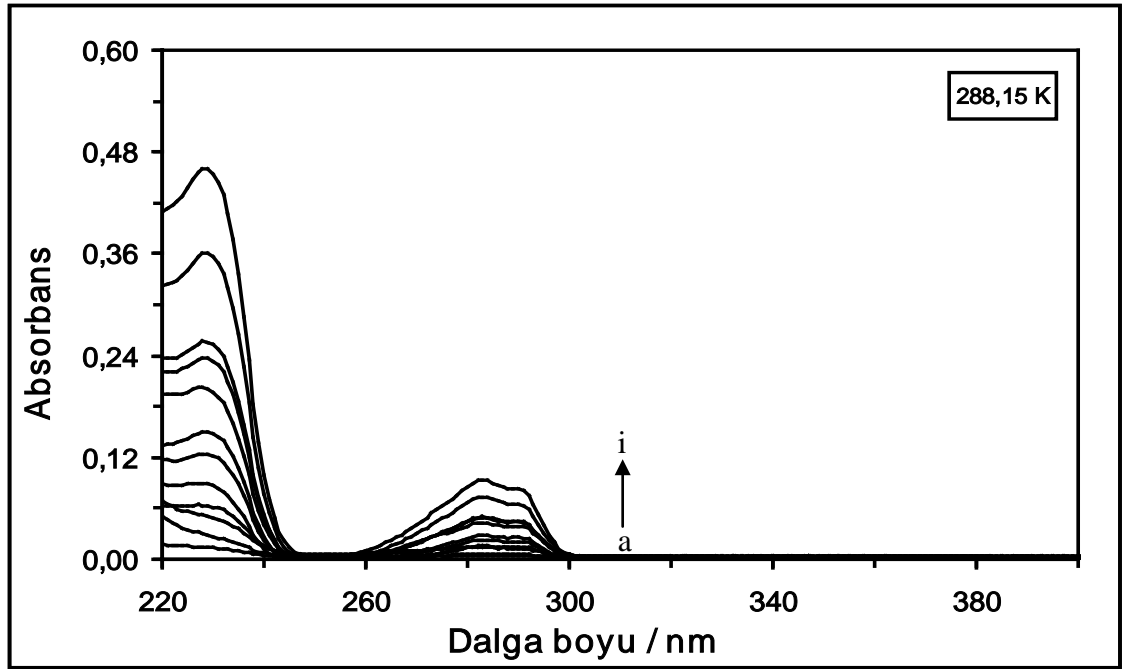
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Diklorprop, Karbofuran, Amitrol ve Dikuat Pestisitleri ile HSA Proteinini Arasındaki Etkileşimlerin Floresans Spektroskopisi ile İncelenmesi

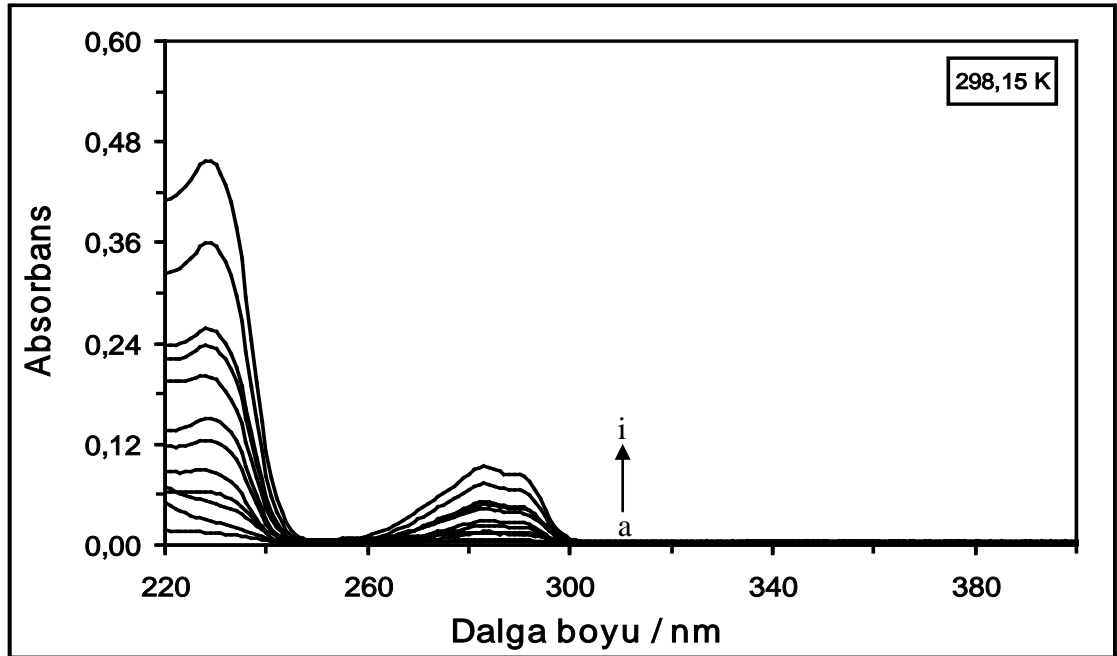
Çalışmada, floresans spektroskopisi tekniği kullanılarak HSA–DCP, HSA-CF, HSA–AR ve HSA-DQ sistemlerindeki etkileşimler 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K sıcaklıklarda incelenmiştir. Floresans spektroskopisi tekniği kullanılarak yapılan çalışmalarda iç filtre etkisi dikkate alınmalıdır. İç filtre etkisi gözlenen floresans şiddetinin azalmasına neden olmaktadır.

Çalışmada, iç filtre etkisi nedeniyle oluşabilecek hataları düzeltmek amacıyla Denklem (3.1) kullanılmış ve düzeltilmiş floresans şiddeti değerleri elde edilmiştir. Denklem (3.1)'in kullanılabilmesi için sistemin uyarılma ve emisyon dalga boylarında sahip olduğu absorbans değerlerinin ölçülmesi gerekmektedir. Bu nedenle, her bir HSA-pestisit sistemi için saf pestisit, saf HSA ve HSA-pestisit karışım çözeltilerinin 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'deki UV-visible absorpsiyon spektrumları elde edilmiştir.

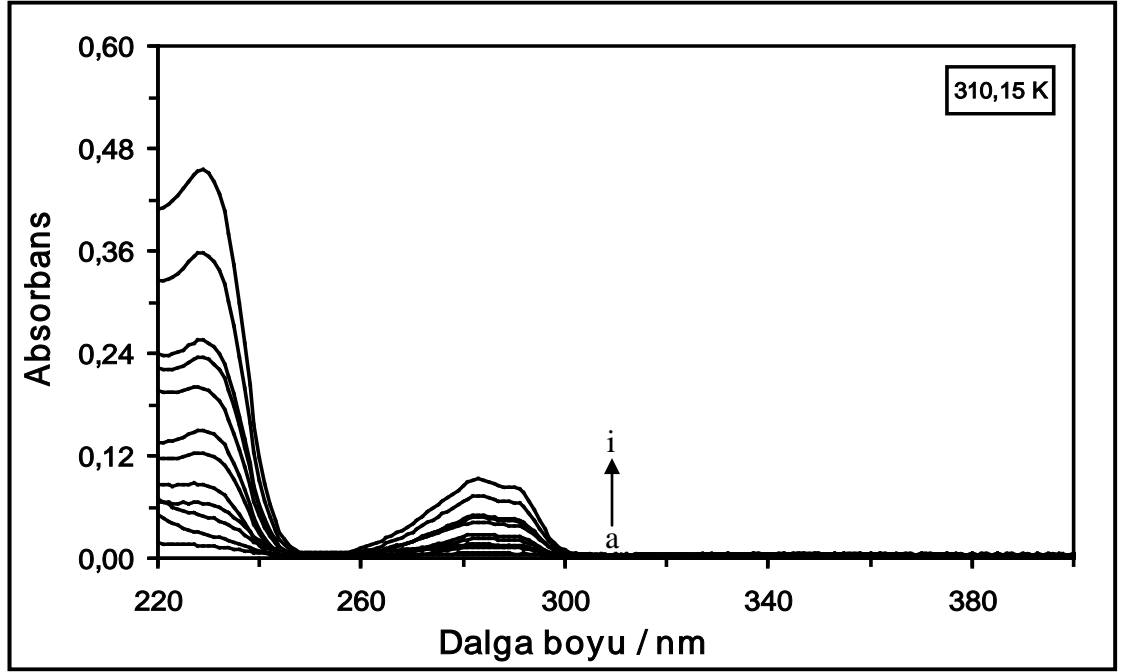
Farklı sıcaklıklarda (288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de) kaydedilen absorpsiyon spektrumları saf DCP için sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te, saf HSA ve HSA-DCP karışımları için Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de, saf CF için Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de, saf HSA ve HSA-CF karışımları için Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da, saf AR için Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de, saf HSA ve HSA-AR karışımları için Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'te, saf DQ için Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'de, saf HSA ve HSA-DQ karışımları için Şekil 4.29, Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32'de verilmektedir.



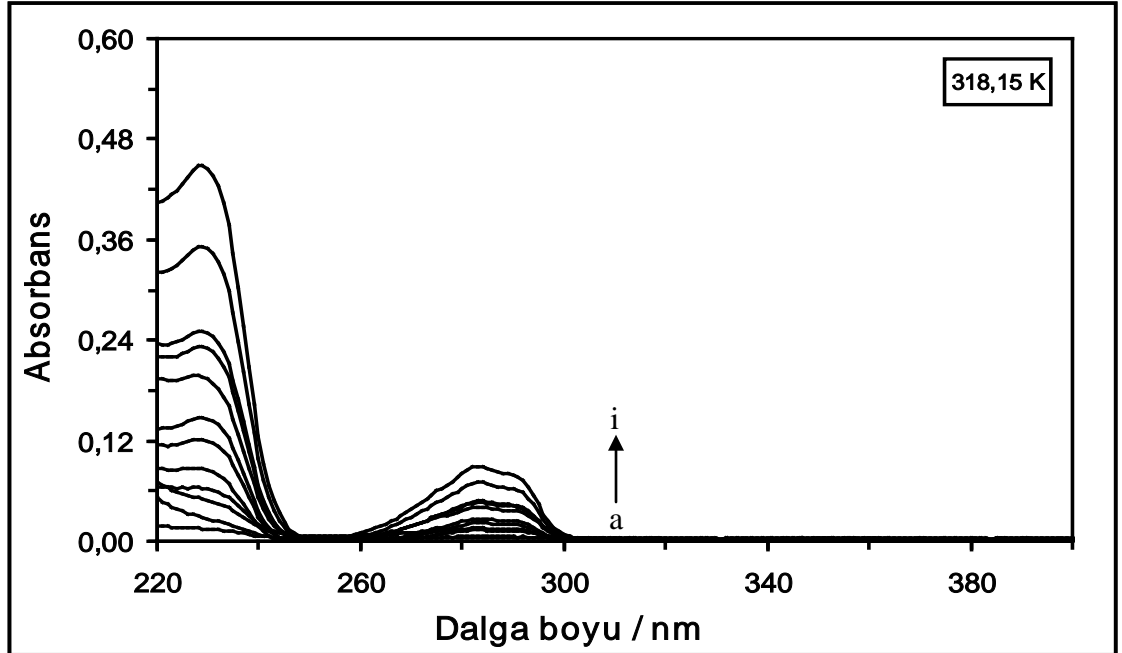
Şekil 4.1. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



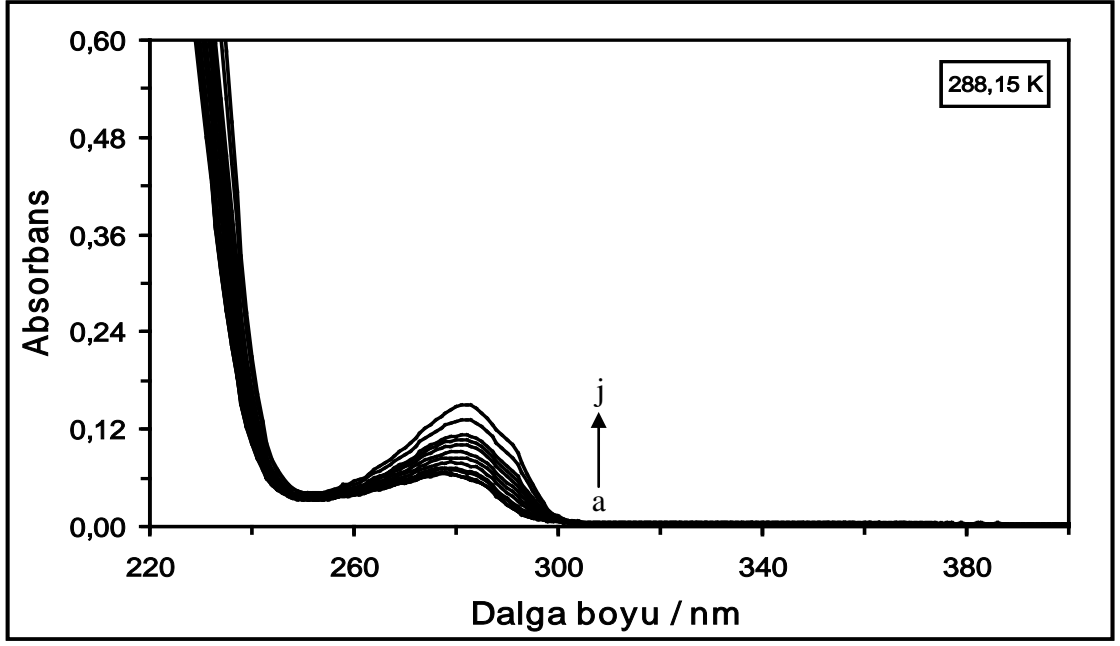
Şekil 4.2. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



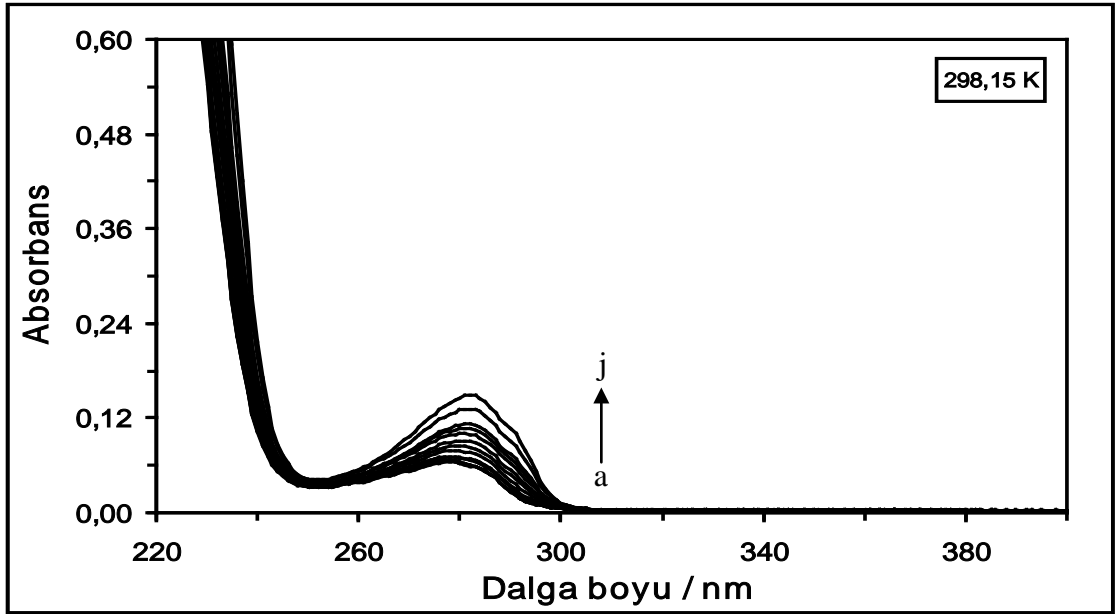
Şekil 4.3. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



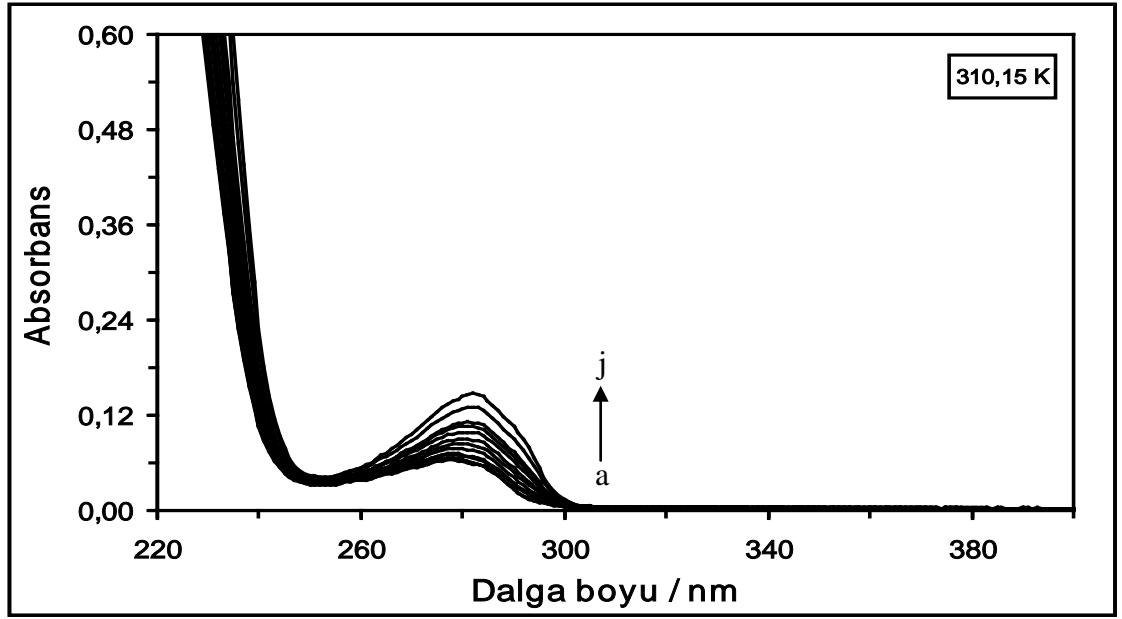
Şekil 4.4. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DCP maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DCP] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



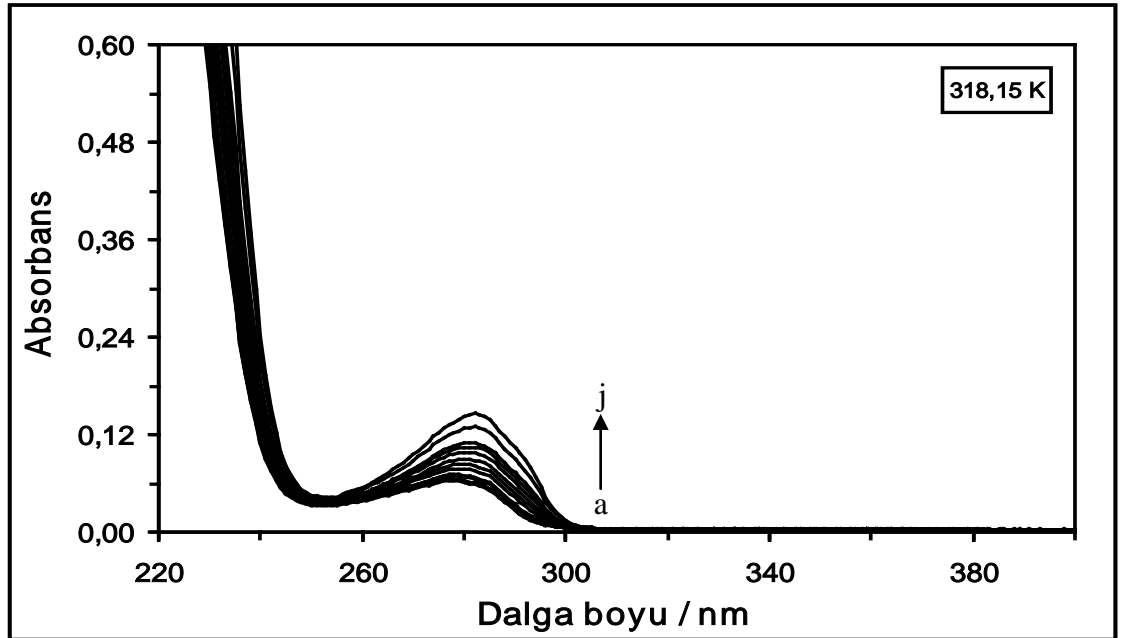
Şekil 4.5. 288,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



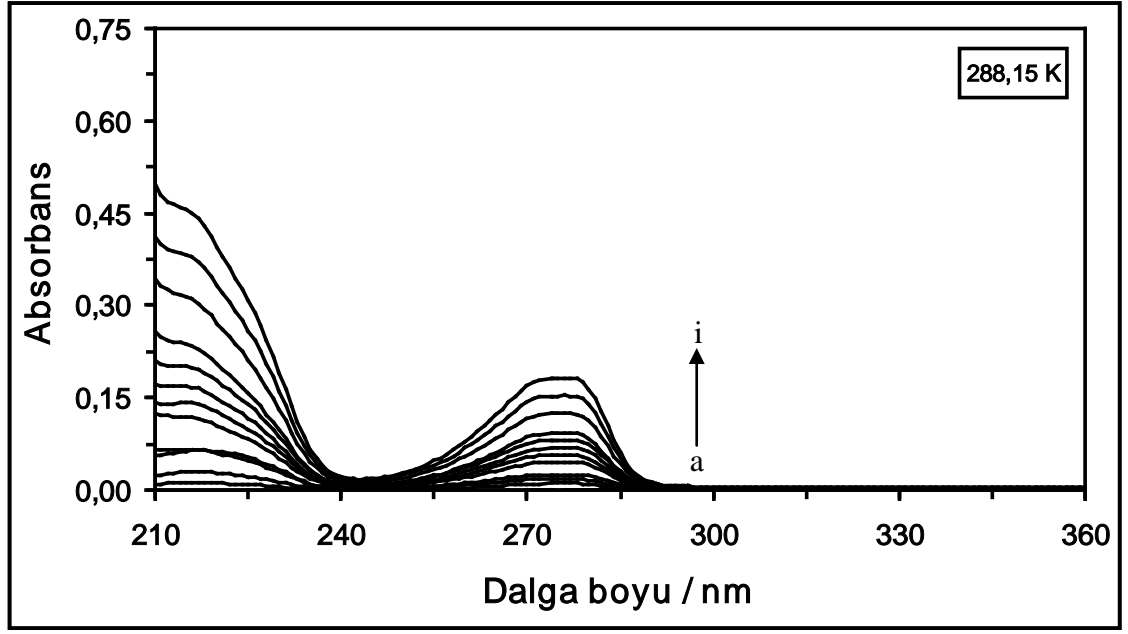
Şekil 4.6. 298,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



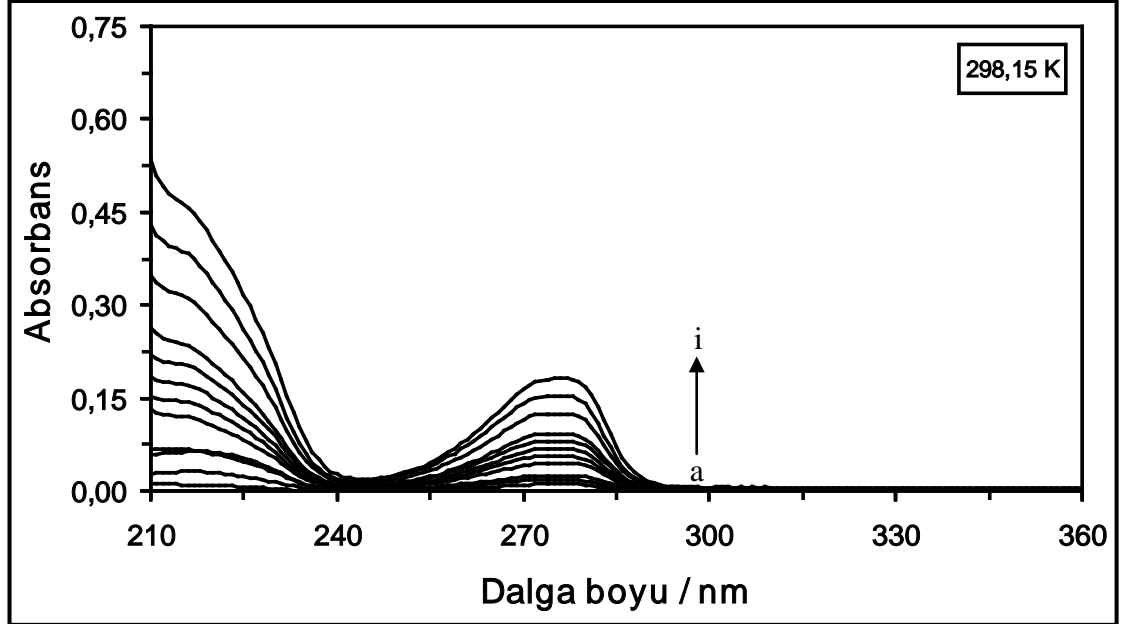
Şekil 4.7. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



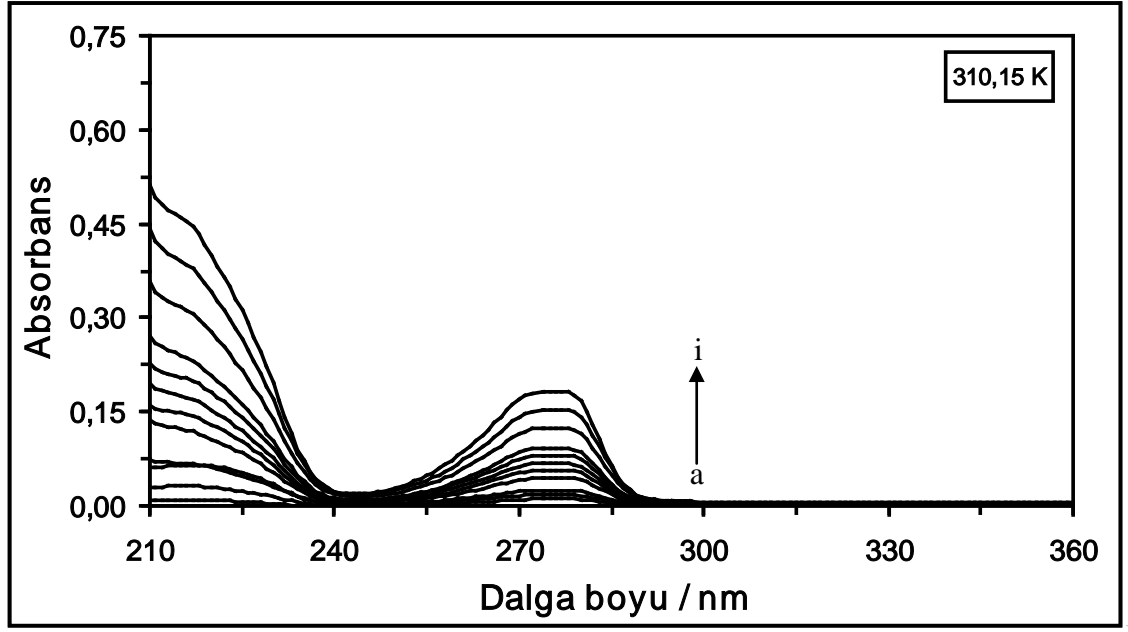
Şekil 4.8. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



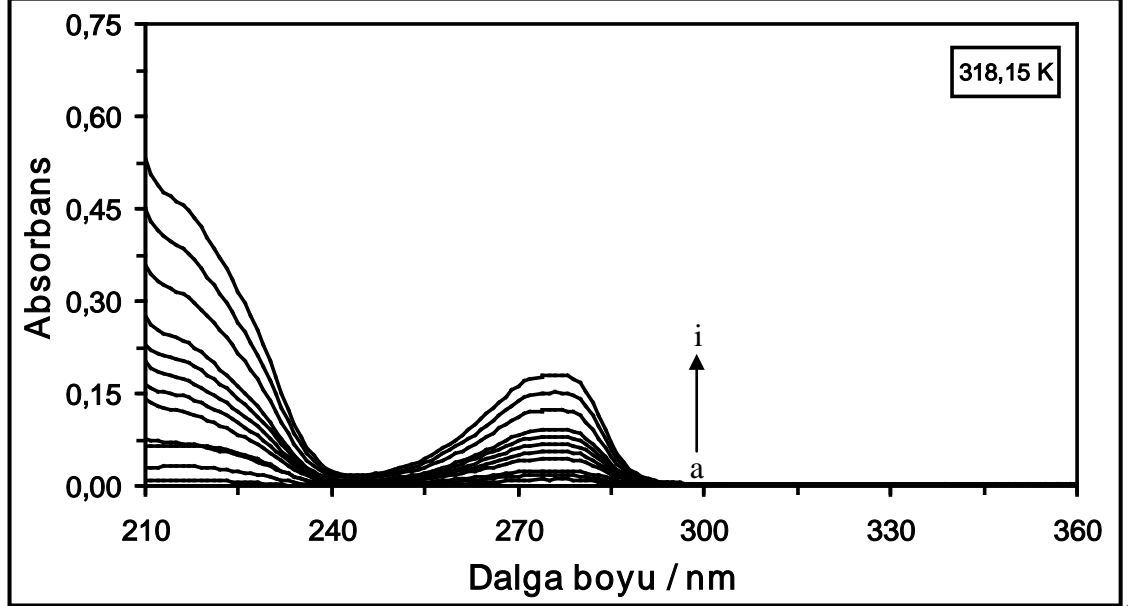
Şekil 4.9. 288,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



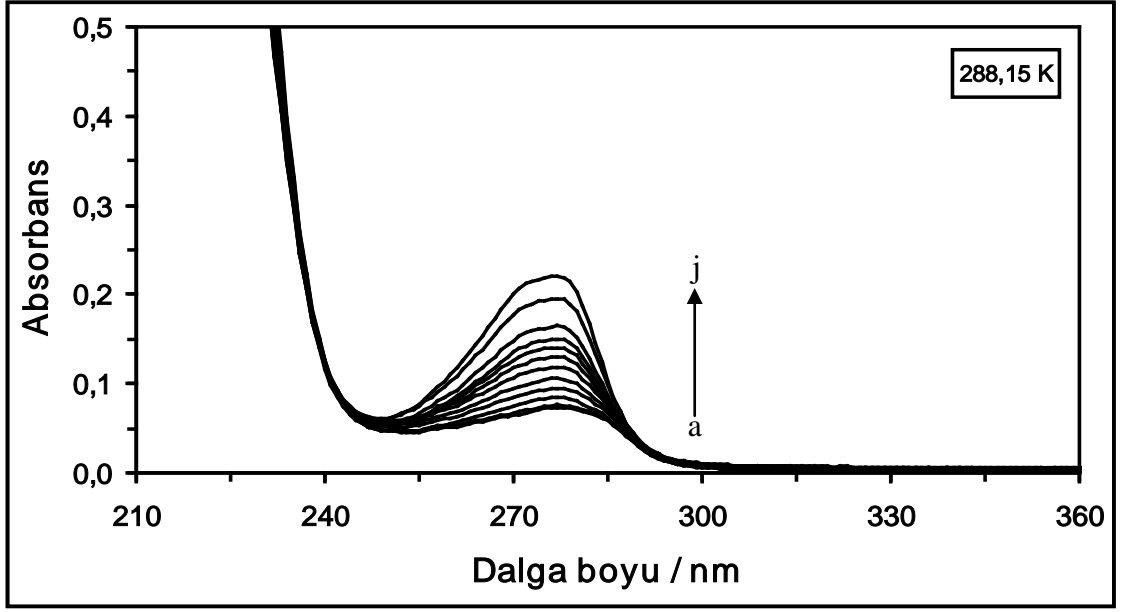
Şekil 4.10. 298,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



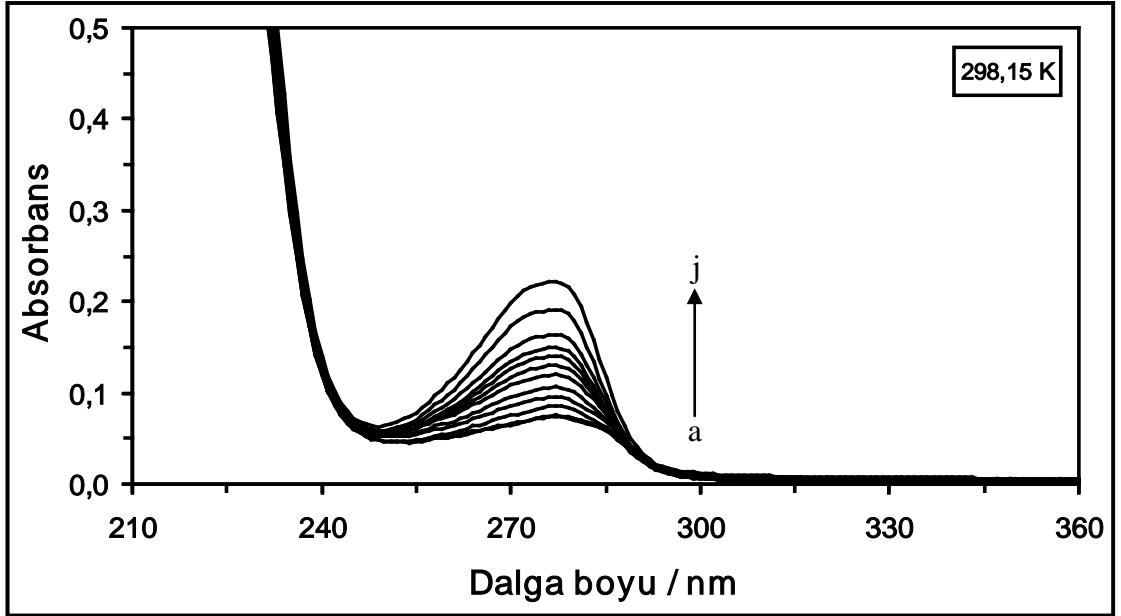
Şekil 4.11. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



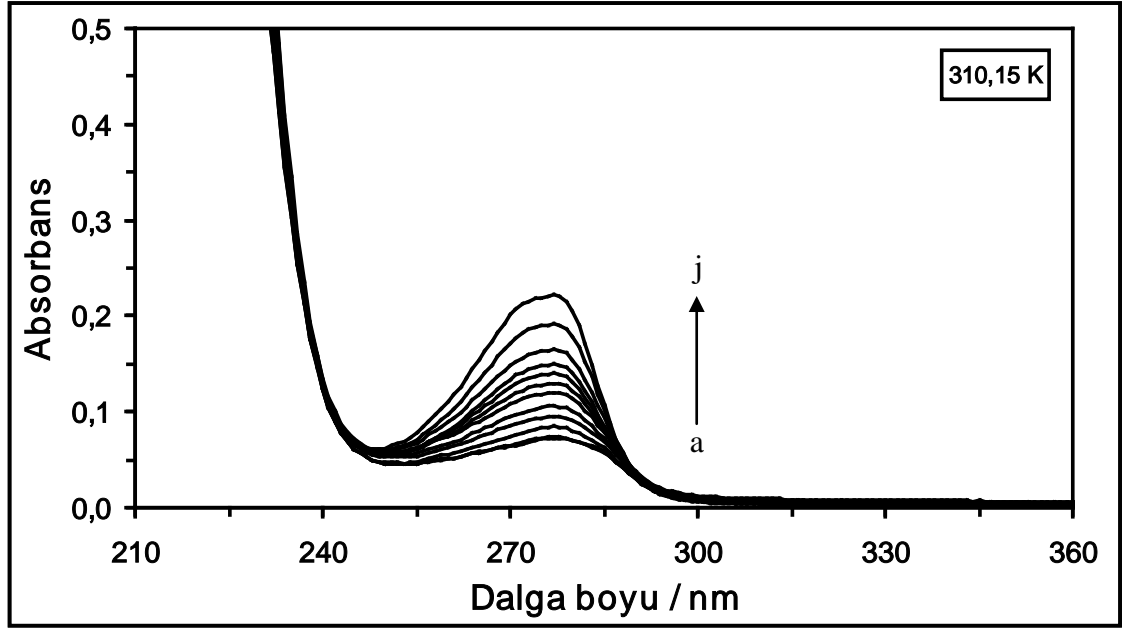
Şekil 4.12. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki CF maddesinin absorpsiyon spektrumları. [CF] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



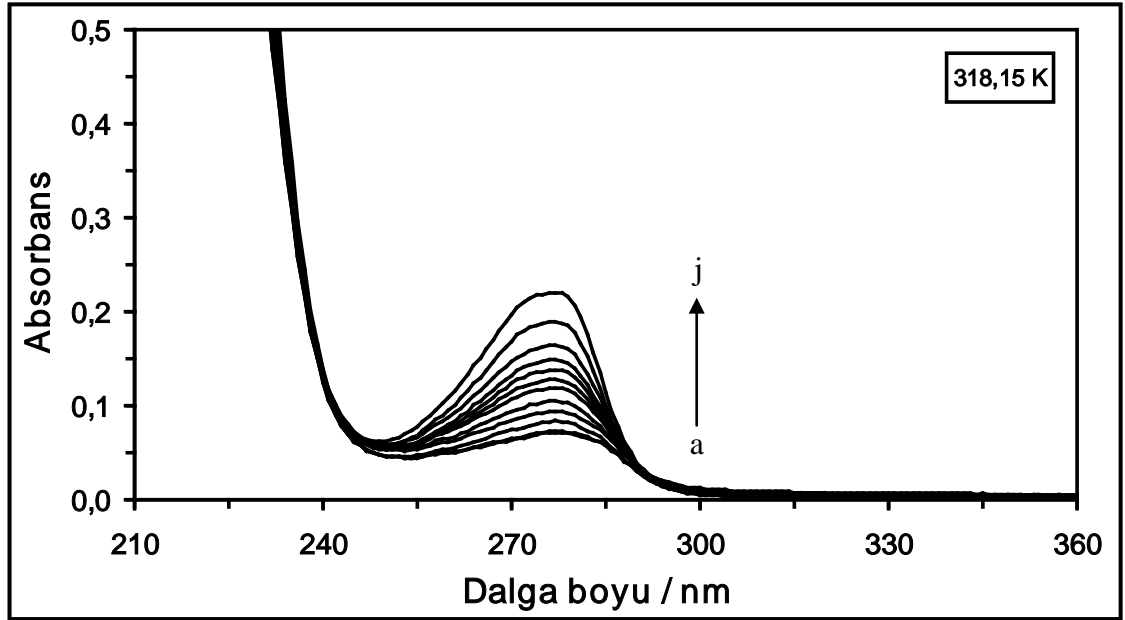
Şekil 4.13. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



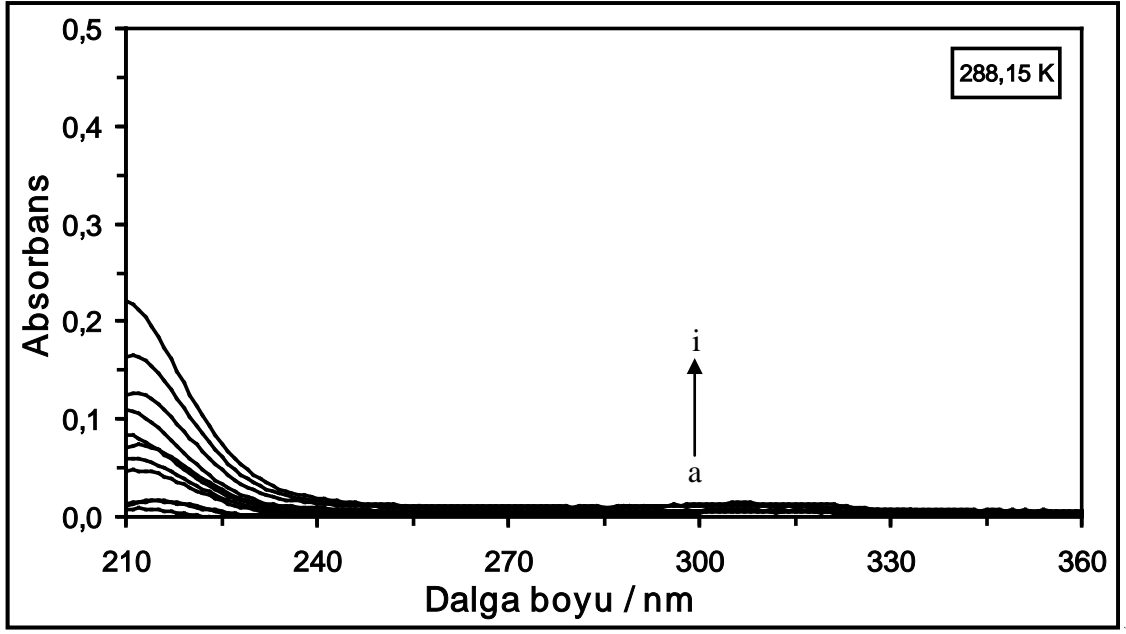
Şekil 4.14. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



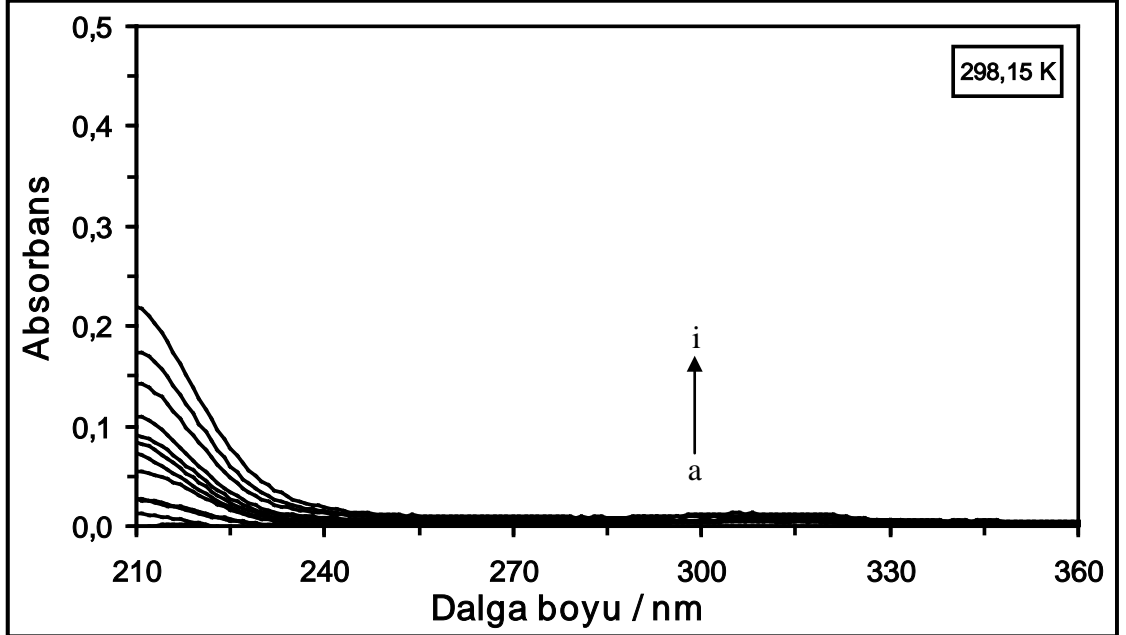
Şekil 4.15. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



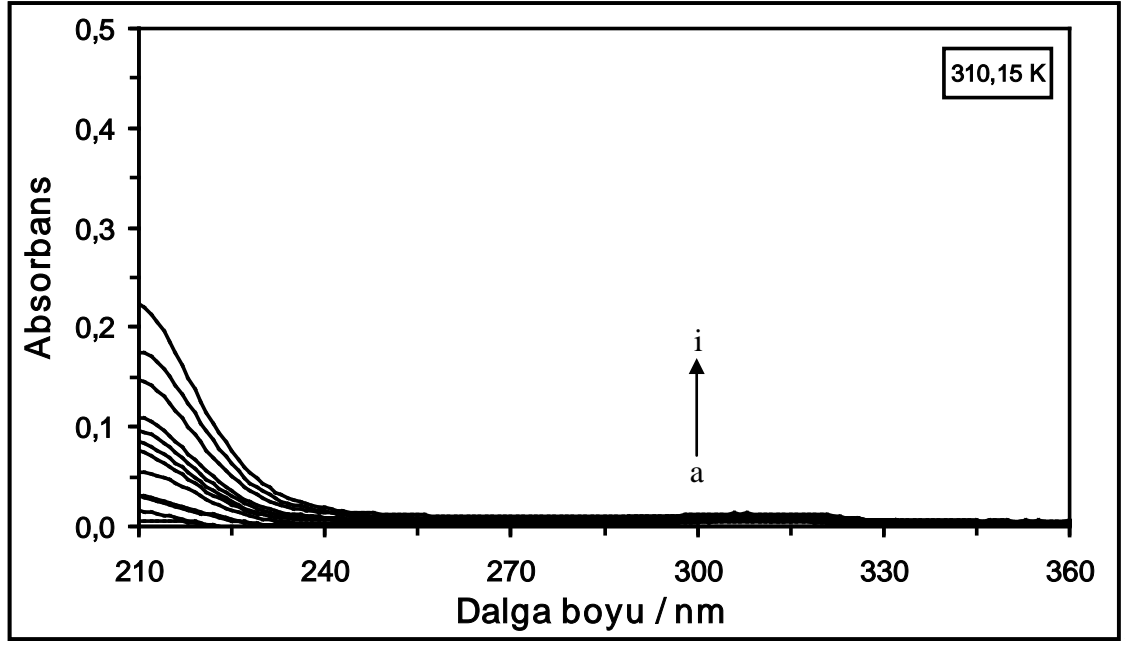
Şekil 4.16. 318,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



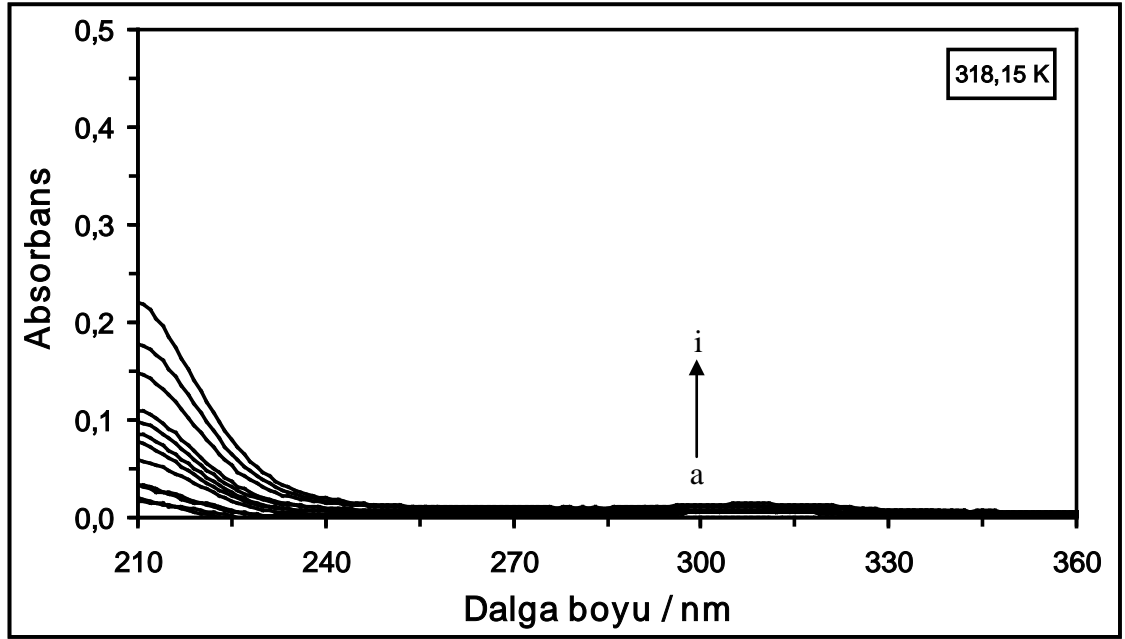
Şekil 4.17. 288,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. $[AR] = (a) 1 \times 10^{-6} \text{ M}, (b) 2 \times 10^{-6} \text{ M}, (c) 4 \times 10^{-6} \text{ M}, (\text{ç}) 6 \times 10^{-6} \text{ M}, (d) 10 \times 10^{-6} \text{ M}, (e) 14 \times 10^{-6} \text{ M}, (f) 18 \times 10^{-6} \text{ M}, (g) 22 \times 10^{-6} \text{ M}, (\text{ğ}) 26 \times 10^{-6} \text{ M}, (h) 30 \times 10^{-6} \text{ M}, (i) 40 \times 10^{-6} \text{ M}$ ve (i) $50 \times 10^{-6} \text{ M}$



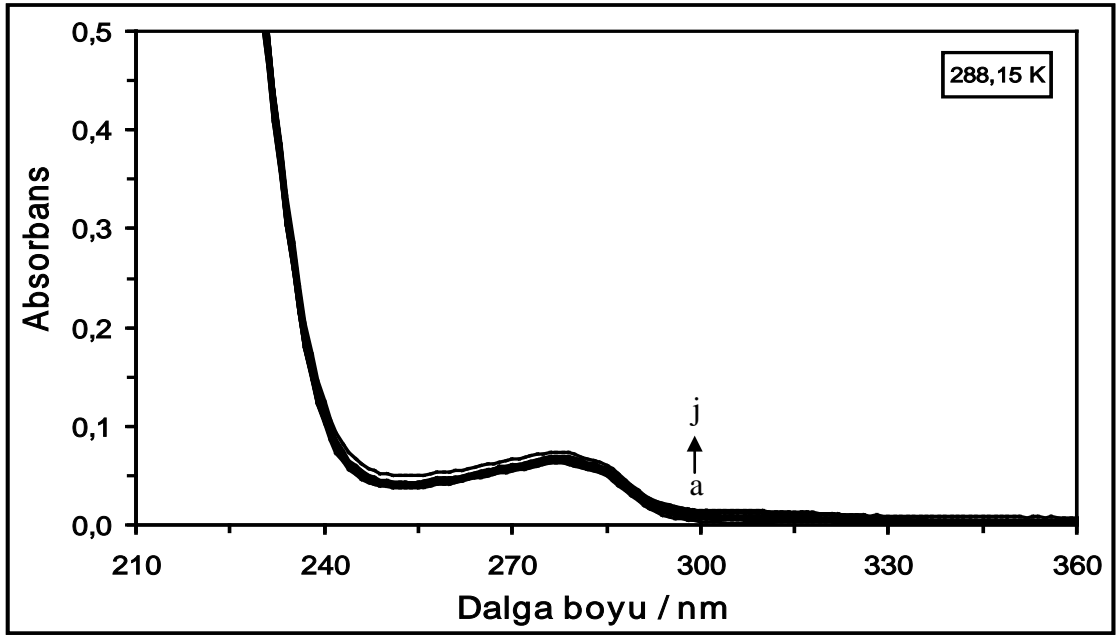
Şekil 4.18. 298,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. $[AR] = (a) 1 \times 10^{-6} \text{ M}, (b) 2 \times 10^{-6} \text{ M}, (c) 4 \times 10^{-6} \text{ M}, (\text{ç}) 6 \times 10^{-6} \text{ M}, (d) 10 \times 10^{-6} \text{ M}, (e) 14 \times 10^{-6} \text{ M}, (f) 18 \times 10^{-6} \text{ M}, (g) 22 \times 10^{-6} \text{ M}, (\text{ğ}) 26 \times 10^{-6} \text{ M}, (h) 30 \times 10^{-6} \text{ M}, (i) 40 \times 10^{-6} \text{ M}$ ve (i) $50 \times 10^{-6} \text{ M}$



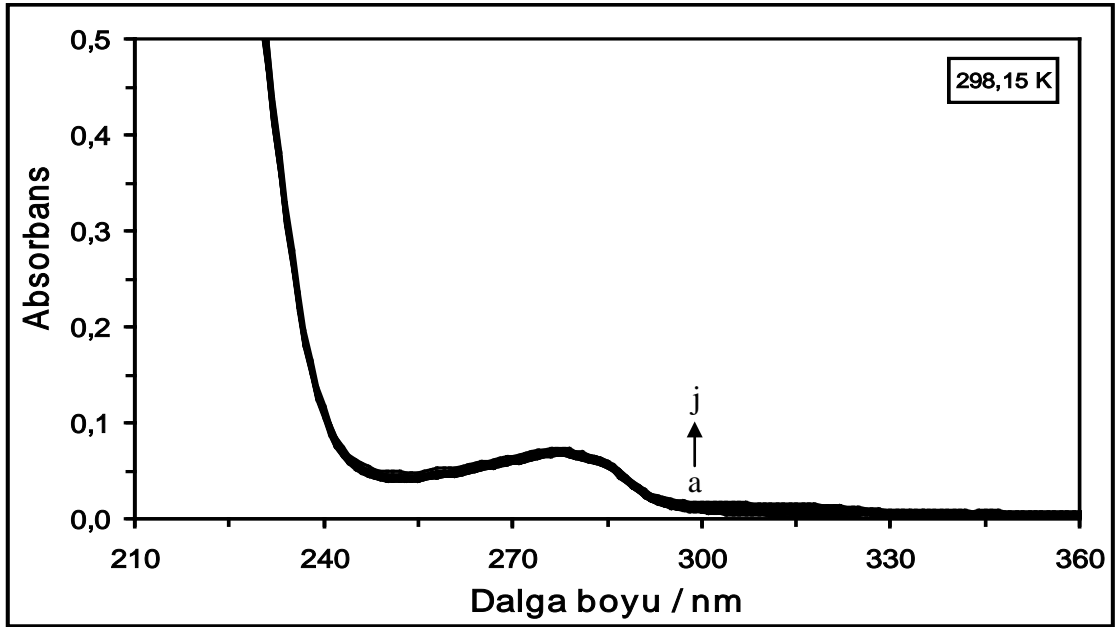
Şekil 4.19. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. [AR] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



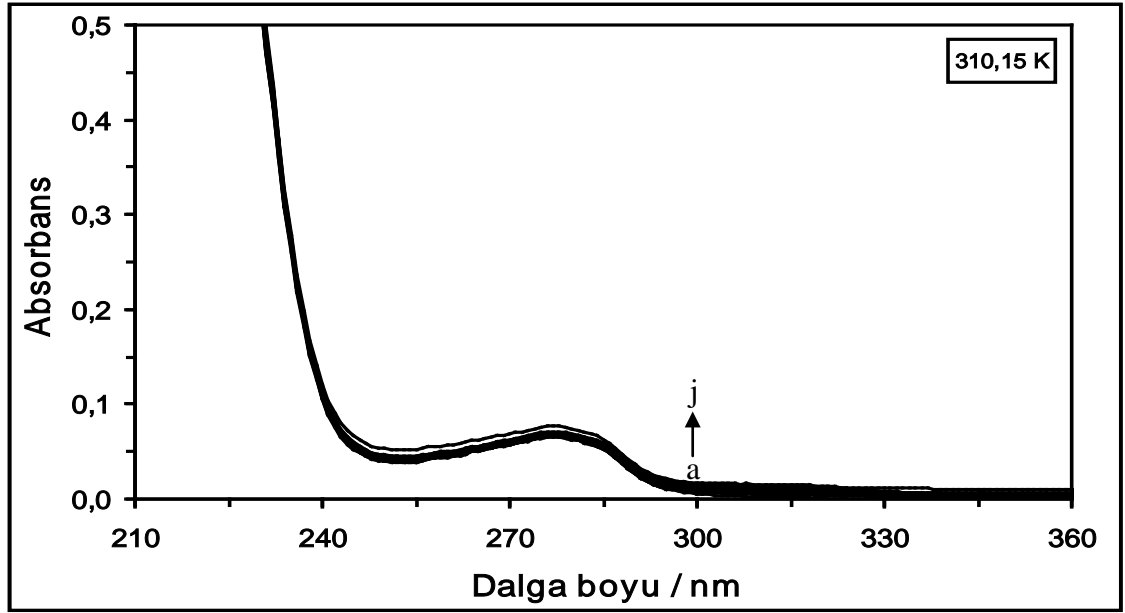
Şekil 4.20. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki AR maddesinin absorpsiyon spektrumları. [AR] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



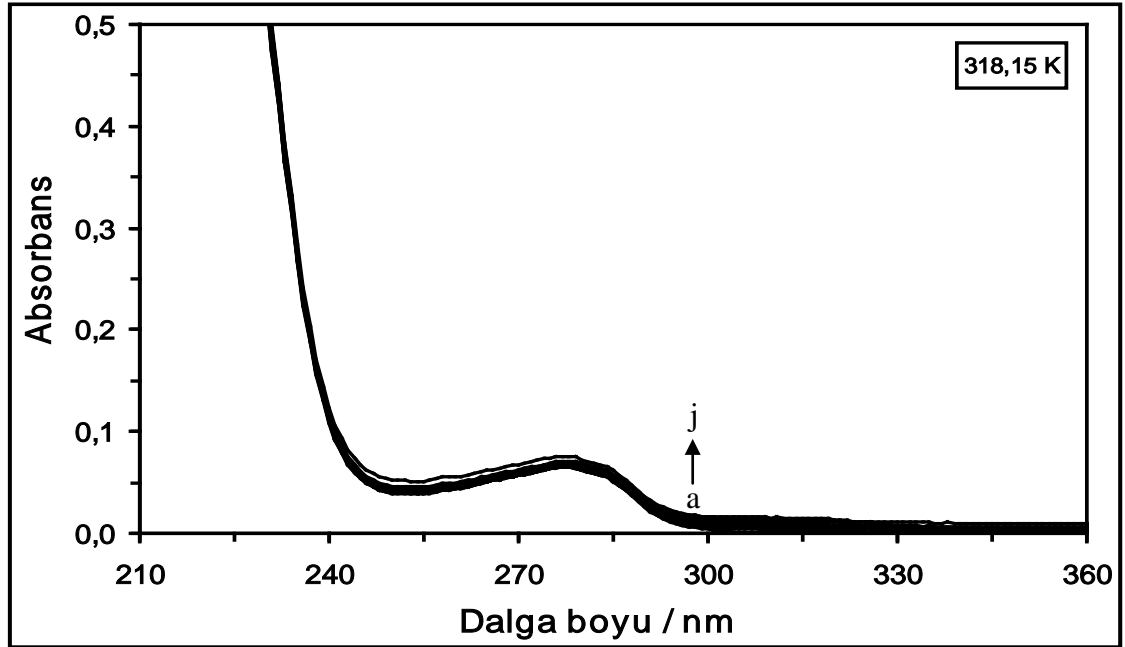
Şekil 4.21. 288,15 K'de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



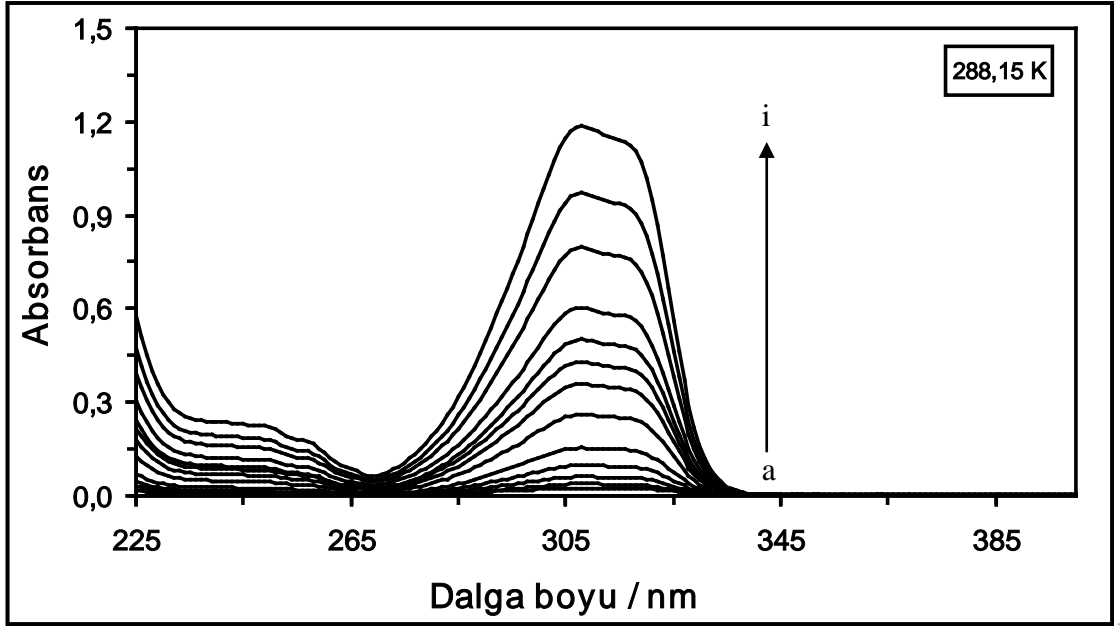
Şekil 4.22. 298,15 K'de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



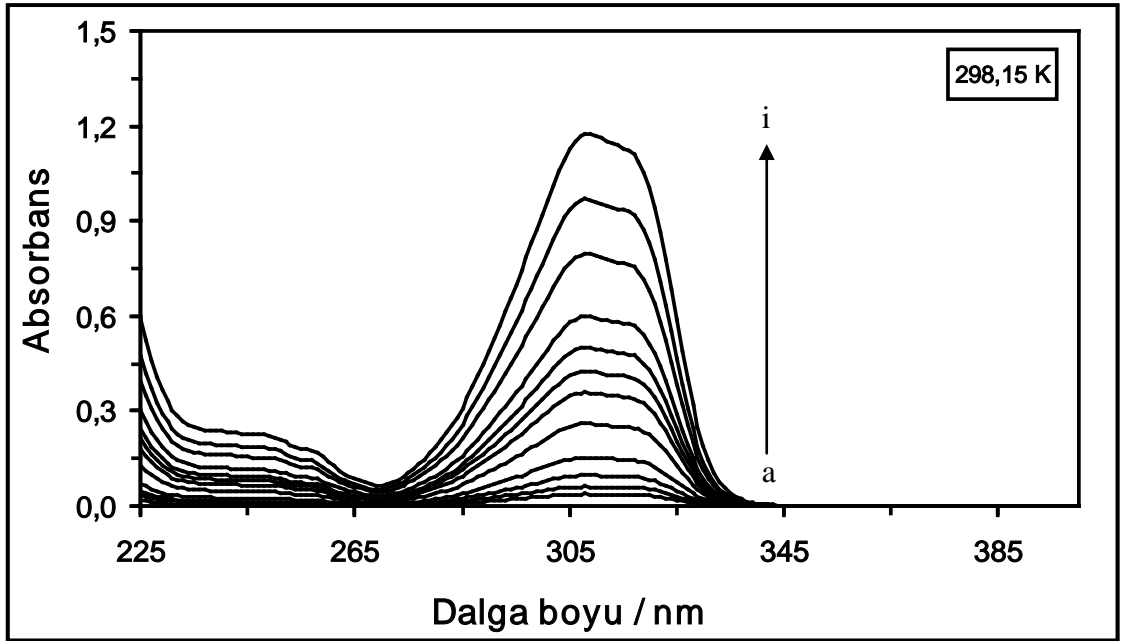
Şekil 4.23. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



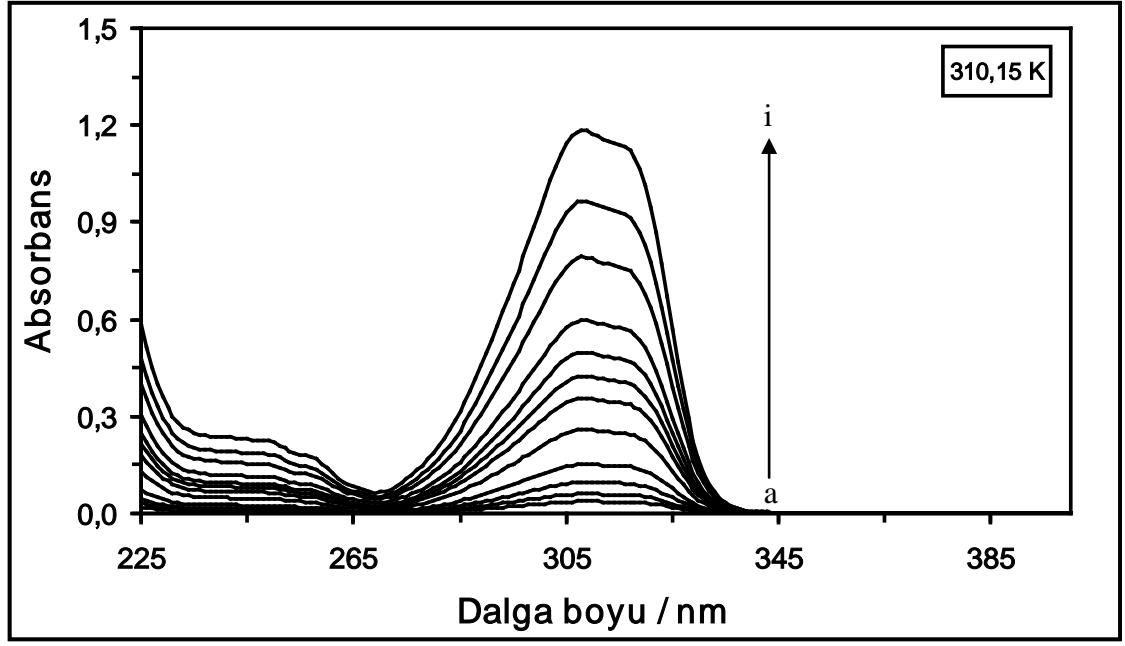
Şekil 4.24. 318,15 K'de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



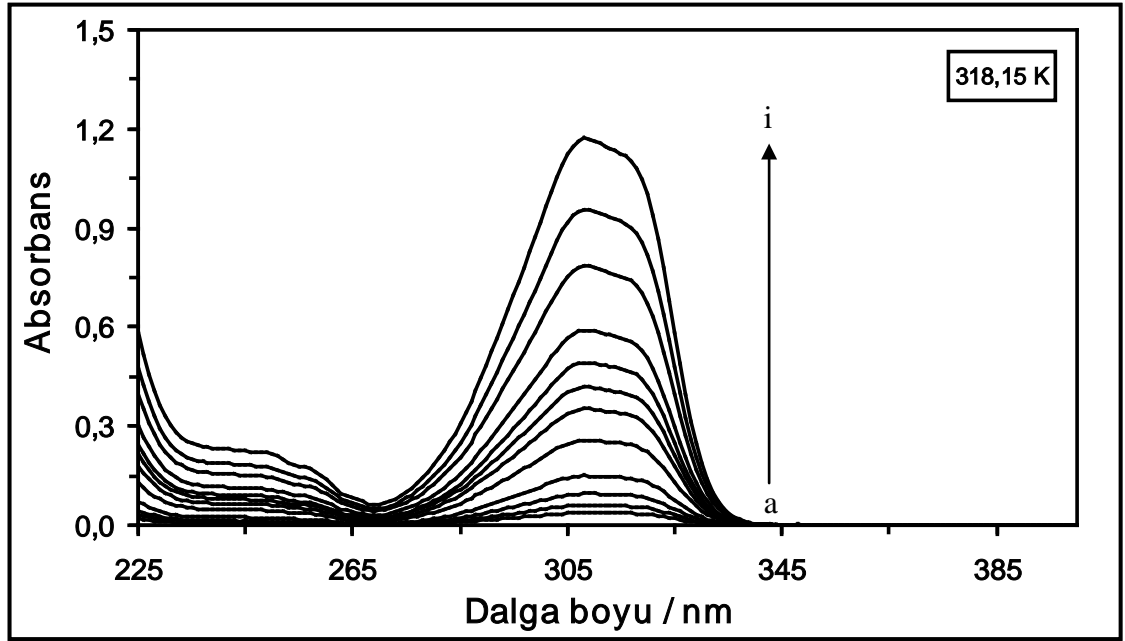
Şekil 4.25. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



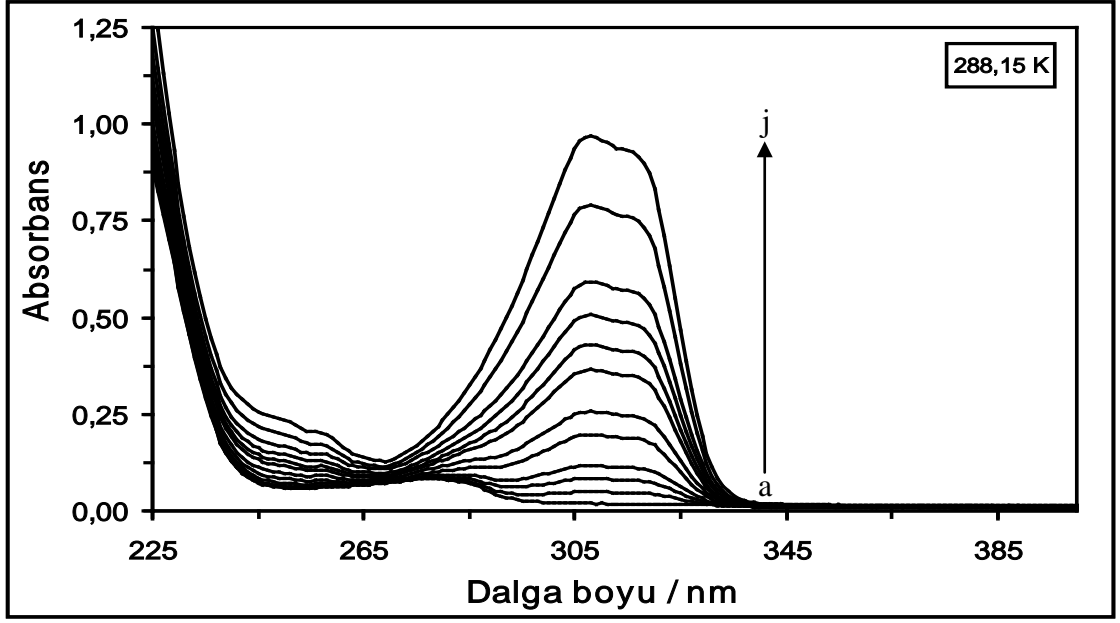
Şekil 4.26. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (ı) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



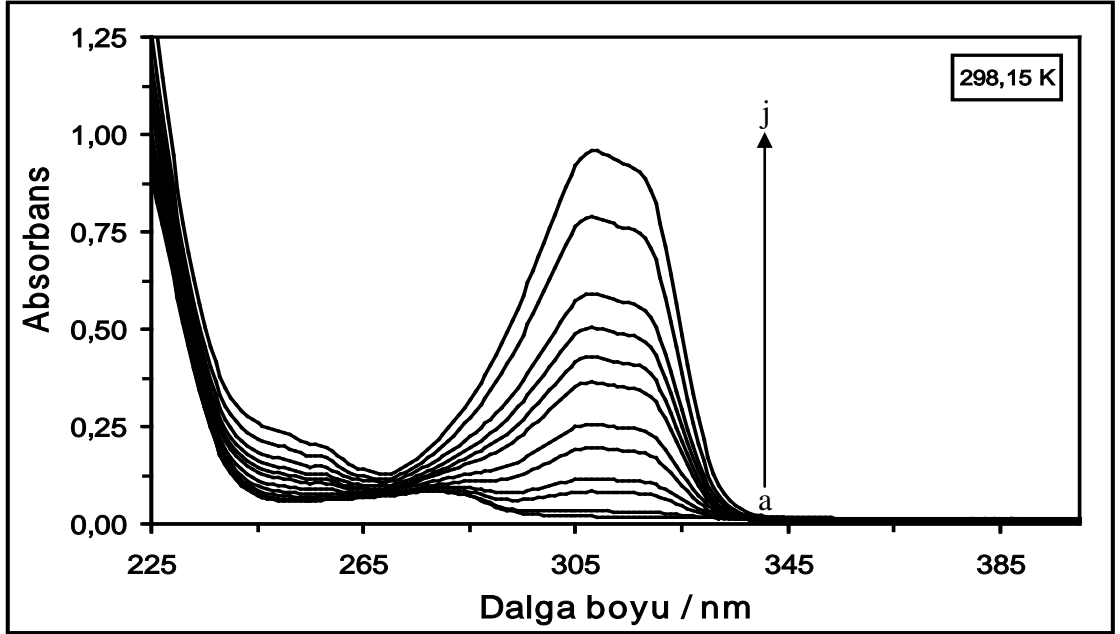
Şekil 4.27. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



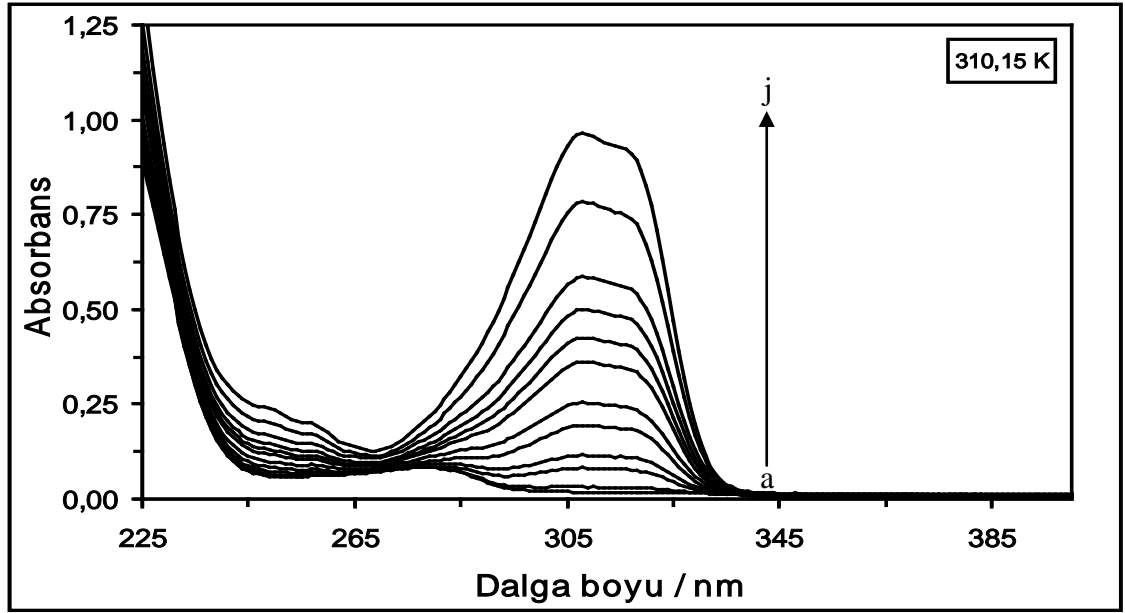
Şekil 4.28. 318,15 K'de farklı konsantrasyonlardaki DQ maddesinin absorpsiyon spektrumları. [DQ] = (a) 1×10^{-6} M, (b) 2×10^{-6} M, (c) 4×10^{-6} M, (ç) 6×10^{-6} M, (d) 10×10^{-6} M, (e) 14×10^{-6} M, (f) 18×10^{-6} M, (g) 22×10^{-6} M, (ğ) 26×10^{-6} M, (h) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (i) 50×10^{-6} M



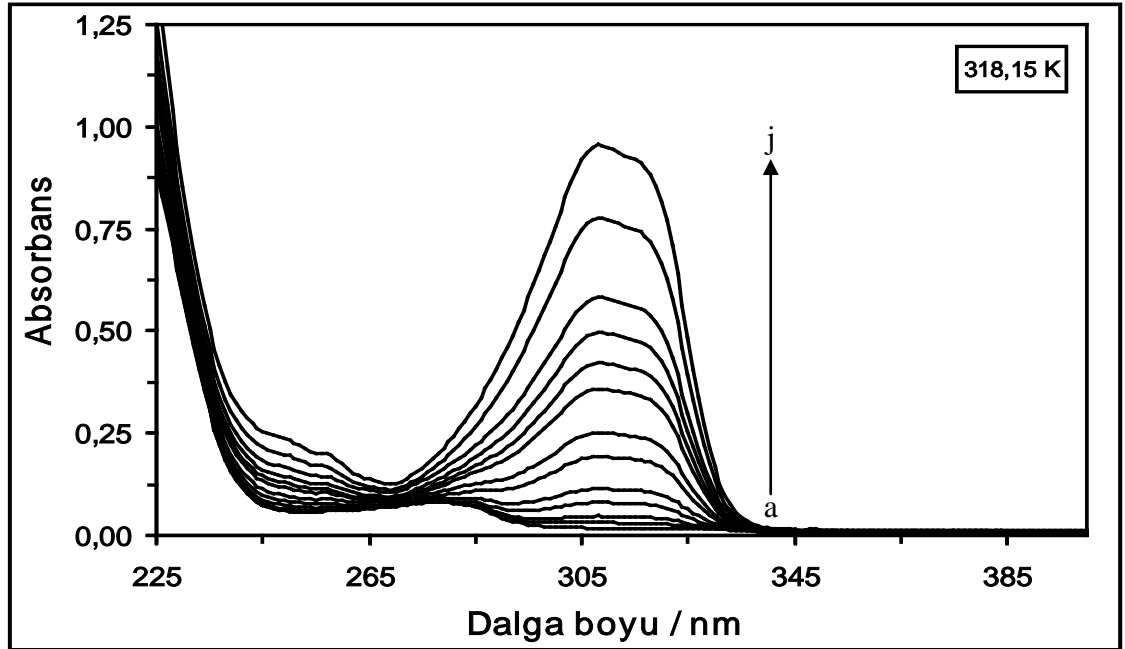
Şekil 4.29. 288,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.30. 298,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

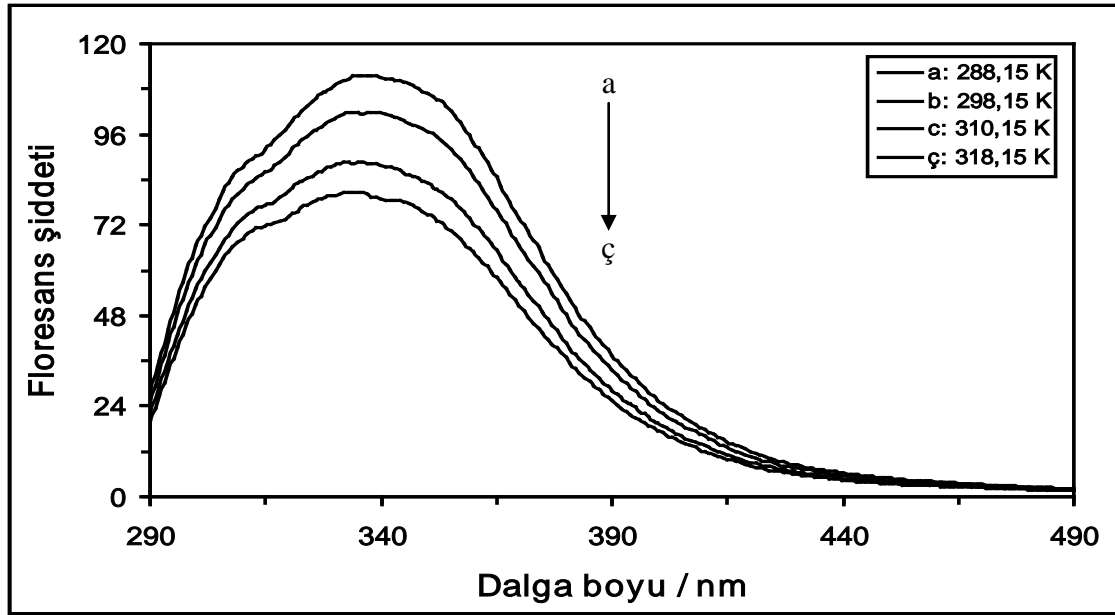


Şekil 4.31. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



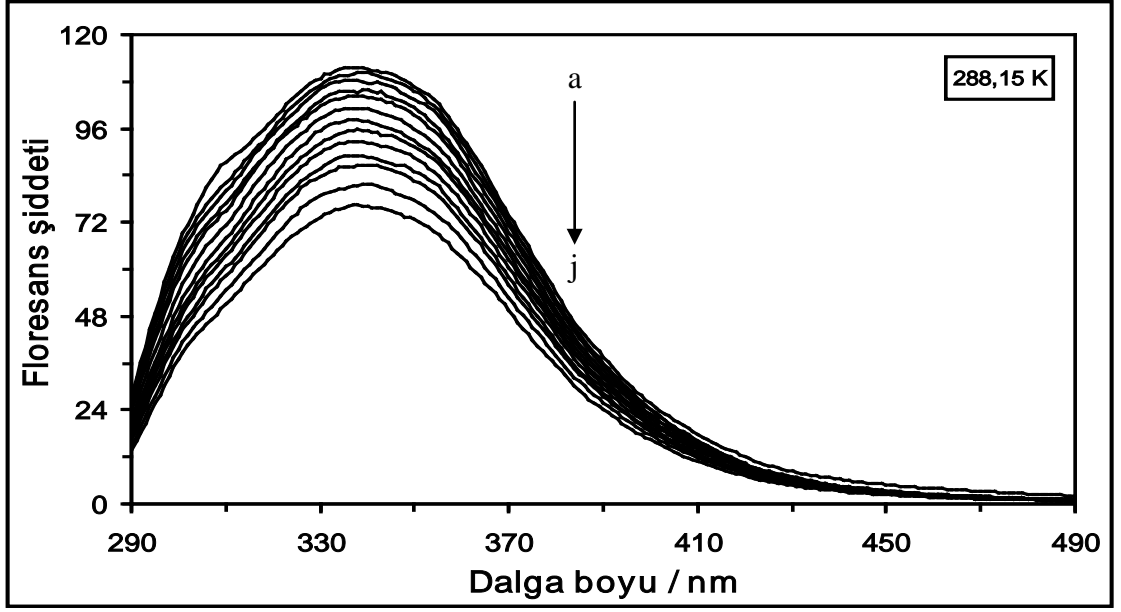
Şekil 4.32. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin absorpsiyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

HSA-DCP, HSA-CF, HSA-AR ve HSA-DQ sistemlerindeki etkileşimler floresans spektroskopisi yöntemi ile incelenirken ilk olarak 2×10^{-6} M'lık saf HSA çözeltisine ait floresans şiddeti değerleri ölçülmüştür. 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K sıcaklıklarda kaydedilmiş saf HSA proteinine ait emisyon spektrumları Şekil 4.33'te gösterilmektedir. 288,15 K'de 2×10^{-6} M'lık saf HSA çözeltisinin maksimum emisyon dalga boyunun 335 nm olduğu görülmektedir (Bkz. Şekil 4.33). Artan sıcaklık ile birlikte saf HSA proteininin floresans şiddetinde bir azalma meydana gelmektedir. Li vd (2007) tarafından yapılan bir çalışmada 280 nm dalga boyunda uyarılan HSA çözeltisine ait maksimum emisyon piki 334 nm'de gözlenmiştir (Li vd 2007). Yapılan bir çalışmada, 2×10^{-6} M'lık HSA çözeltisinin 280 nm dalga boyunda uyarılması sonucunda proteine ait maksimum emisyon dalga boyu 336 nm'de elde edilmiştir (Jang vd 2009).

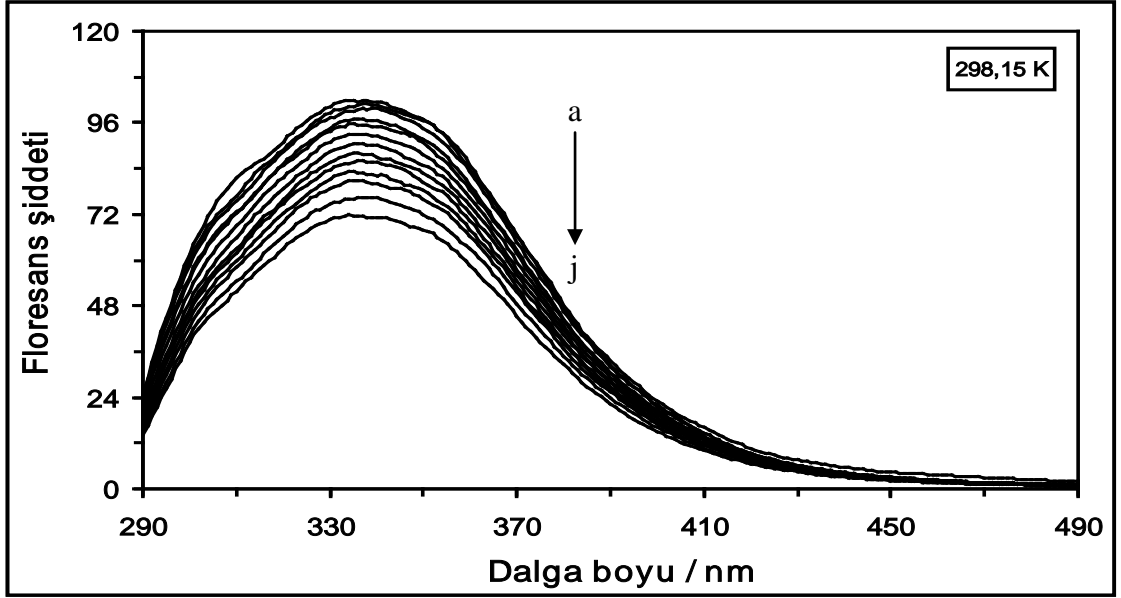


Şekil 4.33. 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K sıcaklıklardaki 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları

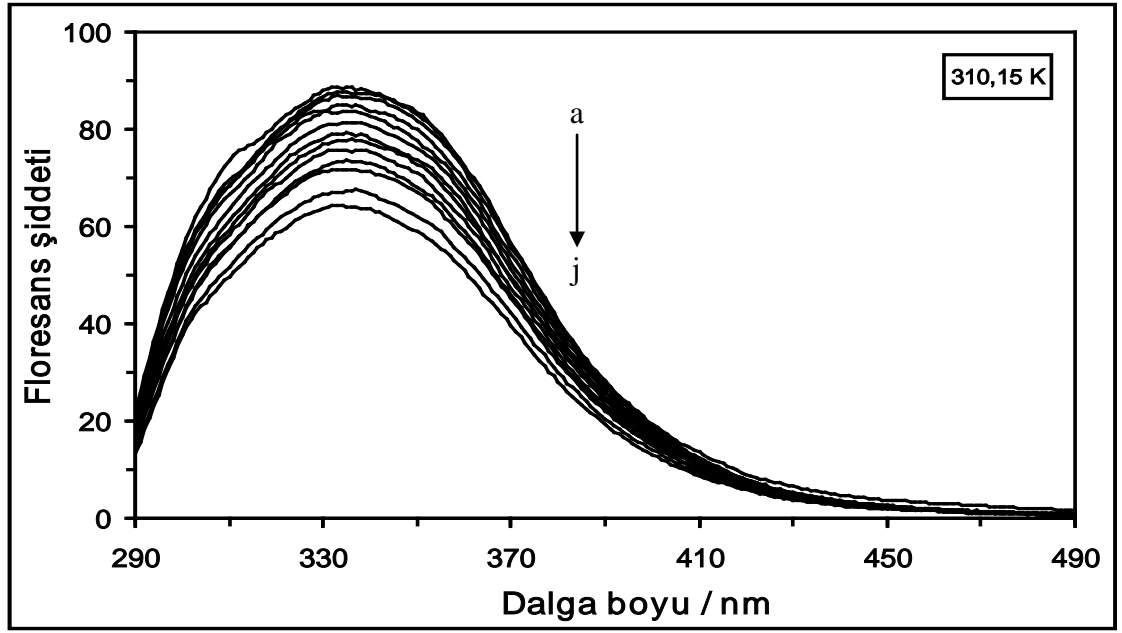
Daha sonra, farklı konsantrasyonlarda DCP maddesi varlığında 2×10^{-6} M'lık HSA çözeltisinin emisyon spektrumları alınmıştır. Farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında elde edilmiş olan 2×10^{-6} M'lık HSA çözeltisine ait iç filtre etkisi için düzeltme uygulanmış emisyon spektrumları 288,15 K için Şekil 4.34'te, 298,15 K için Şekil 4.35'te, 310,15 K için Şekil 4.36'da ve 318,15 K için Şekil 4.37'de verilmektedir.



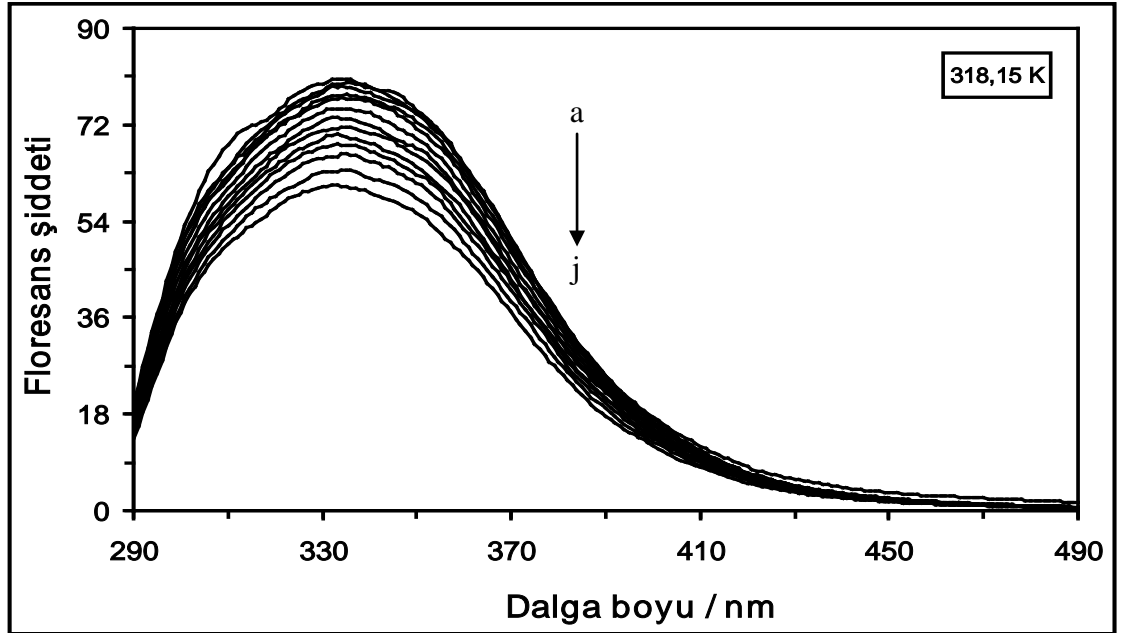
Şekil 4.34. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.35. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.36. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

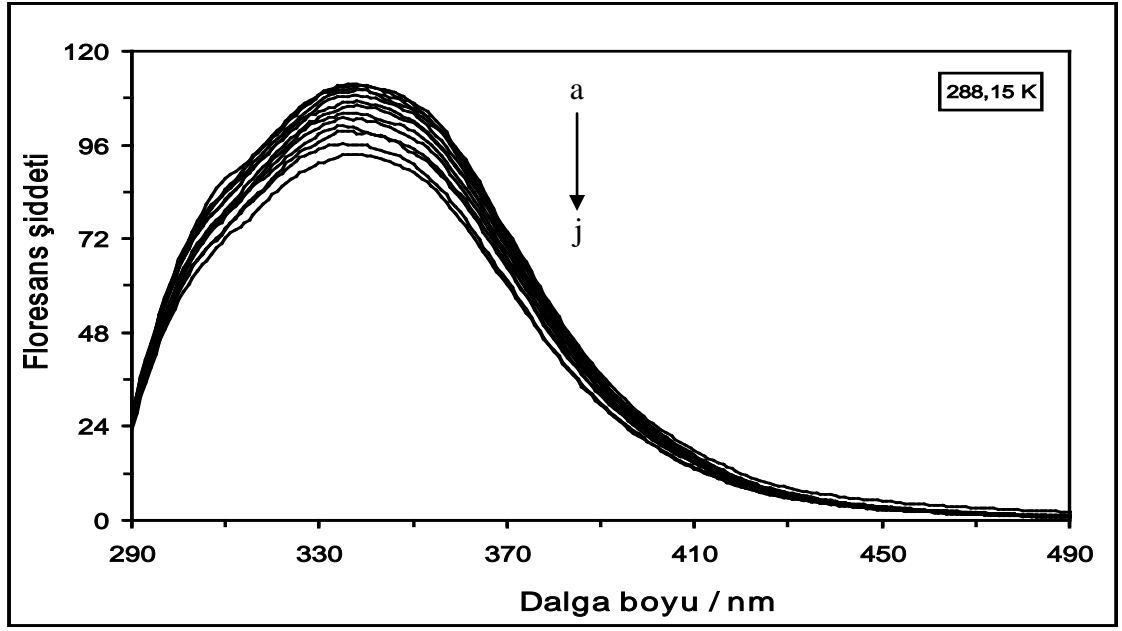


Şekil 4.37. 318,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

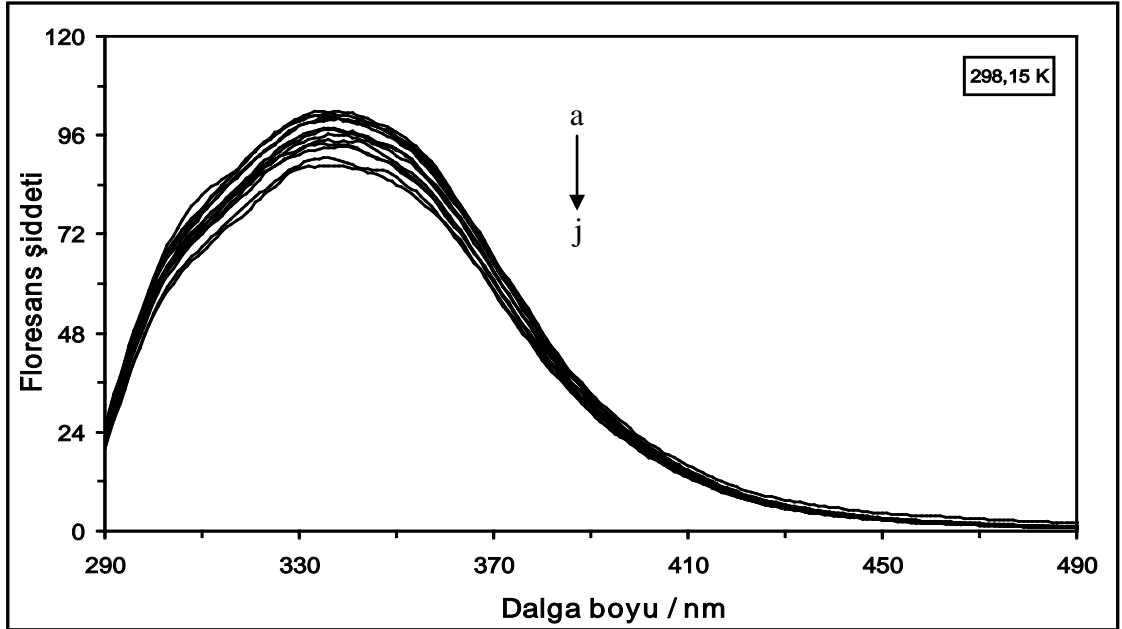
HSA proteininde yer alan triptofan, tirozin ve fenilalanin amino asit kalıntıları, albumin proteininin floresans özellik göstermesine yol açabilmektedir. Fenilalanin amino asitinin kuantum verimi çok düşüktür. Tirozin amino asiti, iyonlaşmış ise veya bir amino grubuna, bir karboksil grubuna veya triptofan amino asitine yakın konumda bulunuyorsa, HSA'nın sönmeme prosesine bir katkıda bulunmamaktadır. Bu nedenle, HSA proteininin floresans özelliği çoğunlukla triptofan amino asitinden kaynaklanmaktadır. HSA proteinine bağlanan maddeler, HSA proteininin floresans şiddetini azaltmaktadır (Wang vd 2008, Cui vd 2009).

Şekil 4.34-4.37'de gösterilen emisyon spektrumları incelendiğinde, DCP konsantrasyonundaki artış ile birlikte HSA proteininin floresans şiddetinde bir azalmanın meydana geldiği görülmektedir. Bu durum, HSA proteini ile DCP maddesi arasında bir etkileşimin gerçekleştiğini göstermektedir. HSA-DCP sisteminde, artan DCP konsantrasyonu ile birlikte HSA proteininin floresans şiddetinde meydana gelen azalmanın miktarı düşük sıcaklıkta daha fazladır (Bkz. Şekil 4.34-4.37). Benzer sonuçlar Cui vd (2009) tarafından gerçekleştirilen HSA proteini ile 8-bromoadenozin arasındaki etkileşimin incelenmesi çalışmasında da görülmüştür. Han vd (2009), BSA proteini ile bir herbisit olan kuinklorak (QUC) maddesi arasındaki etkileşimi incelemişler ve artan QUC konsantrasyonu ile birlikte 2×10^{-6} M'lık BSA protein çözeltisinin floresans şiddetinde bir azalmanın olduğunu belirtmişlerdir.

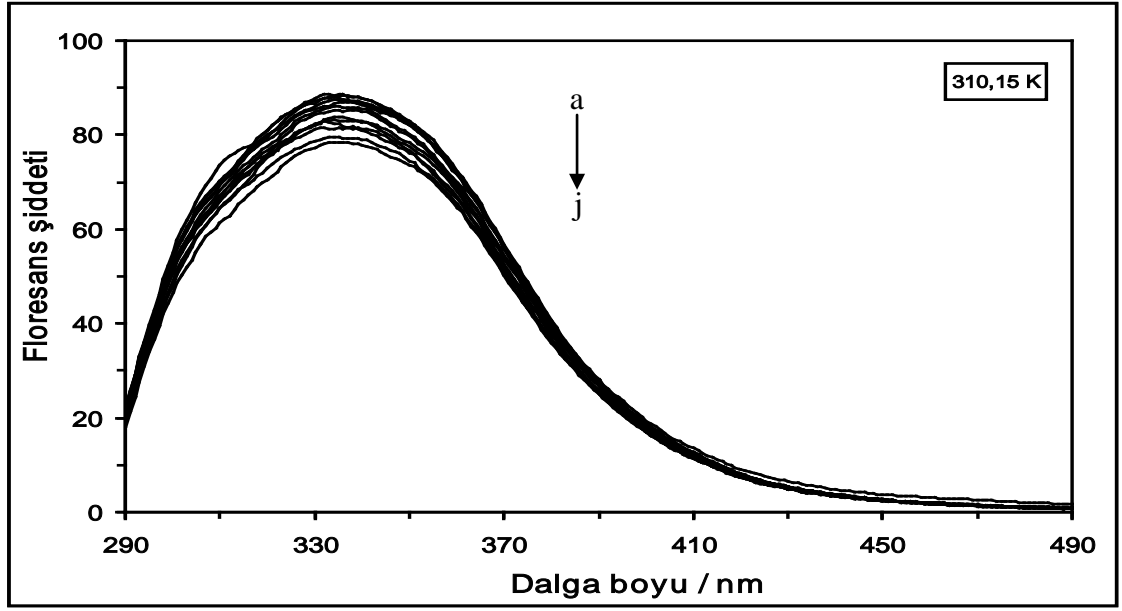
Farklı konsantrasyonlarda CF varlığında, HSA proteininin emisyon spektrumlarındaki değişimler 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de belirlenmiştir. HSA-CF sistemi için, iç filtre etkisini önlemek amacıyla düzeltme uygulanarak elde edilmiş olan spektrumlar 288,15 K için Şekil 4.38'de, 298,15 K için Şekil 4.39'da, 310,15 K için Şekil 4.40'da ve 318,15 K için Şekil 4.41'de gösterilmektedir.



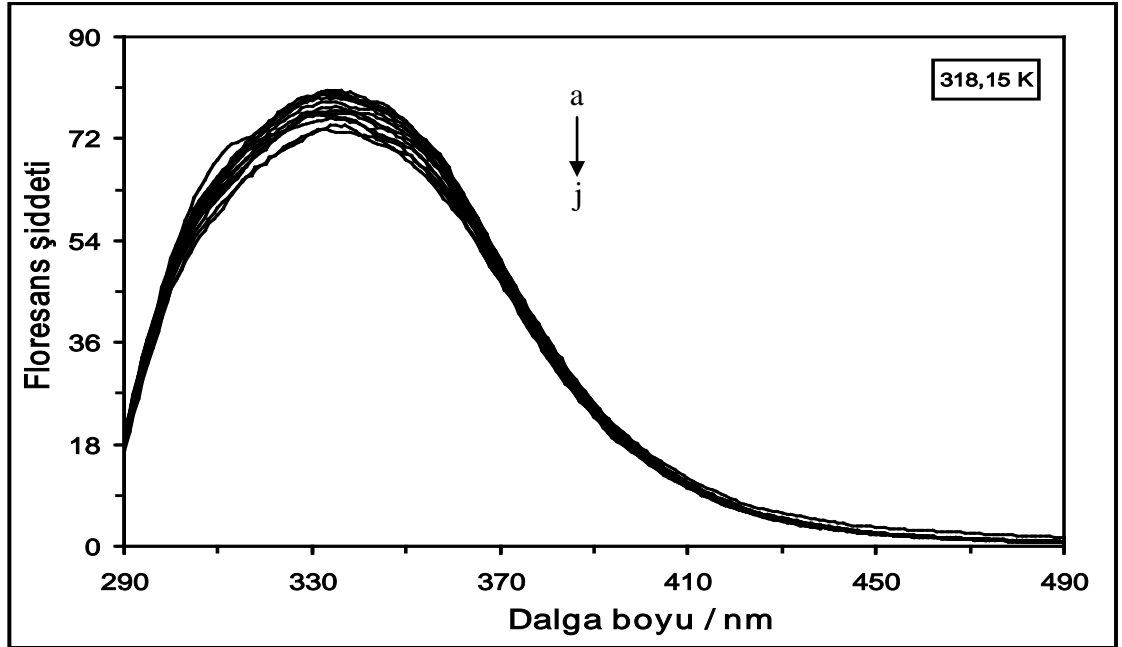
Şekil 4.38. 288,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.39. 298,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



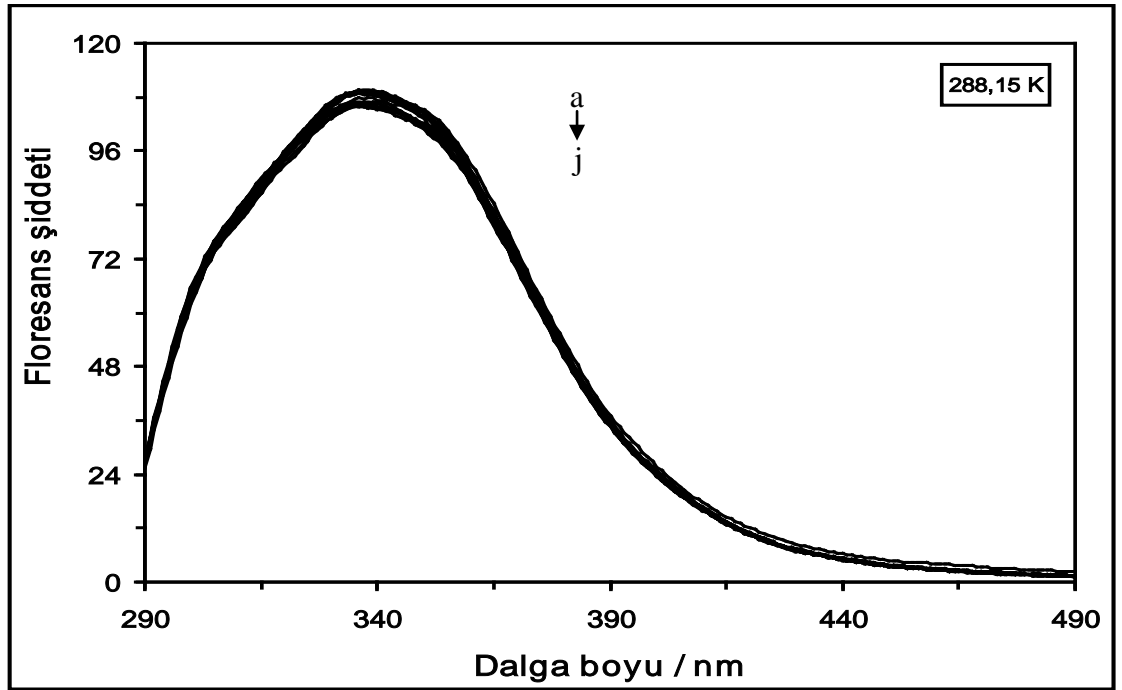
Şekil 4.40. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



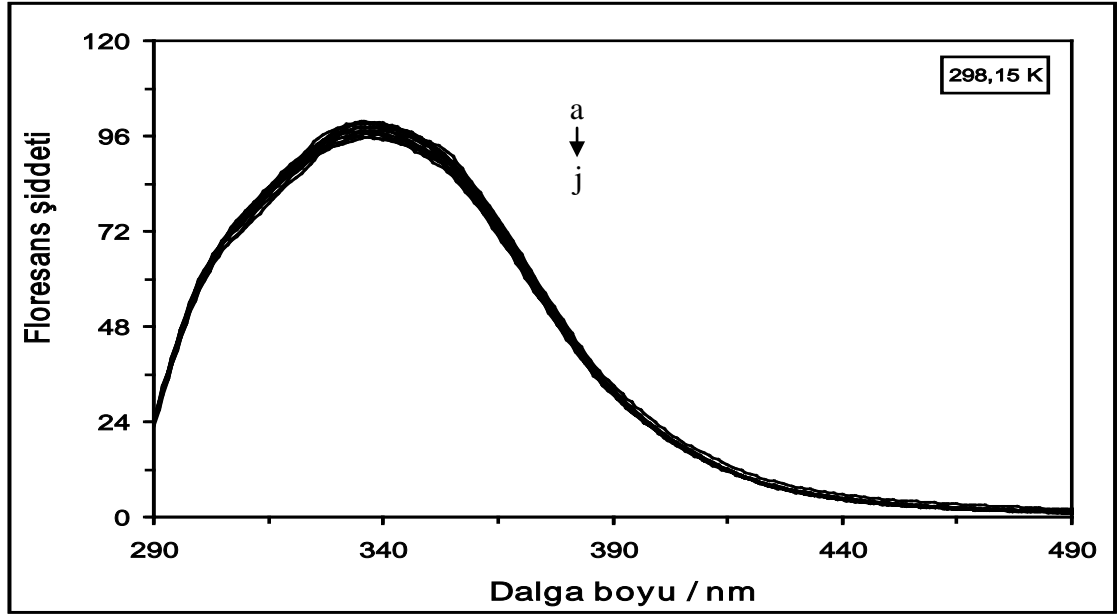
Şekil 4.41. 318,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

Şekil 4.38-4.41’de yer alan HSA-CF sistemine ait düzeltilmiş emisyon spektrumları incelendiğinde, protein çözeltisinde bulunan CF maddesinin konsantrasyonundaki artışla birlikte HSA proteininin floresans şiddetinde az miktarda bir azalmanın olduğu görülmektedir. Bu durum, aynı zamanda HSA proteini ile CF maddesi arasındaki etkileşimin çok kuvvetli olmadığını göstermektedir.

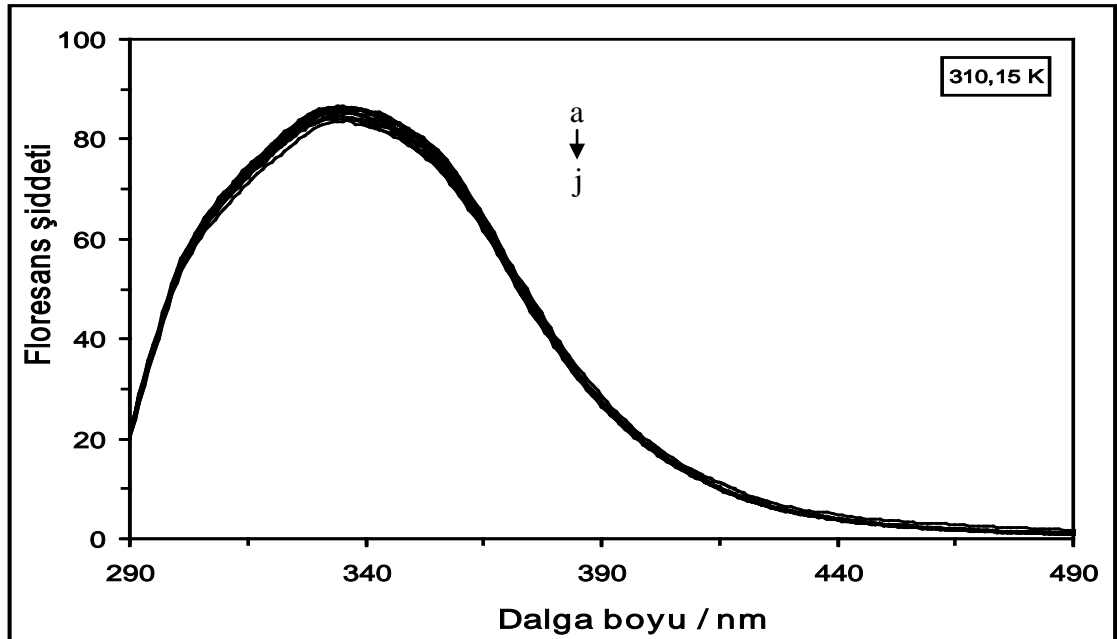
2×10^{-6} M HSA çözeltisinin AR maddesi varlığındaki düzeltme uygulanmış emisyon spektrumları 288,15 K için Şekil 4.42’de, 298,15 K için Şekil 4.43’te, 310,15 K için Şekil 4.44’te ve 318,15 K için 4.45’te verilmektedir.



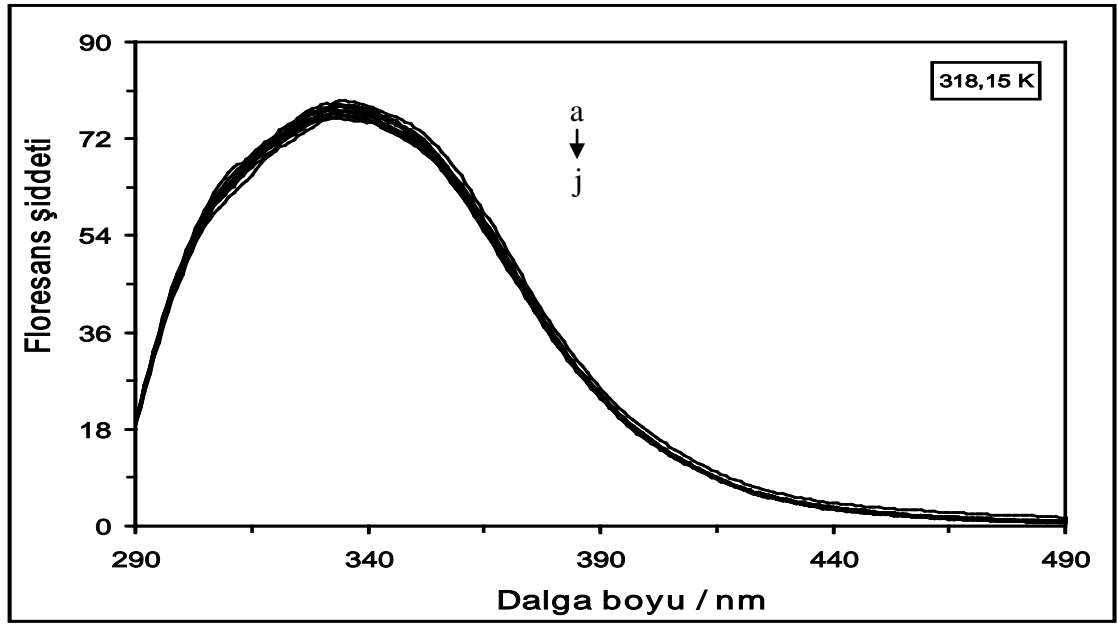
Şekil 4.42. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.43. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



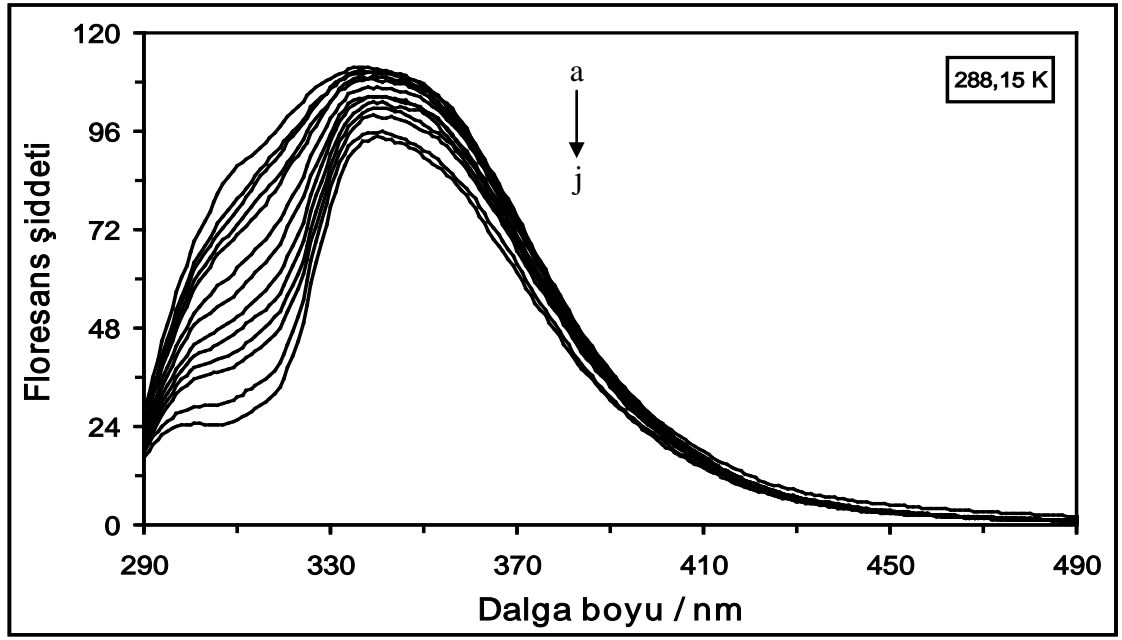
Şekil 4.44. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



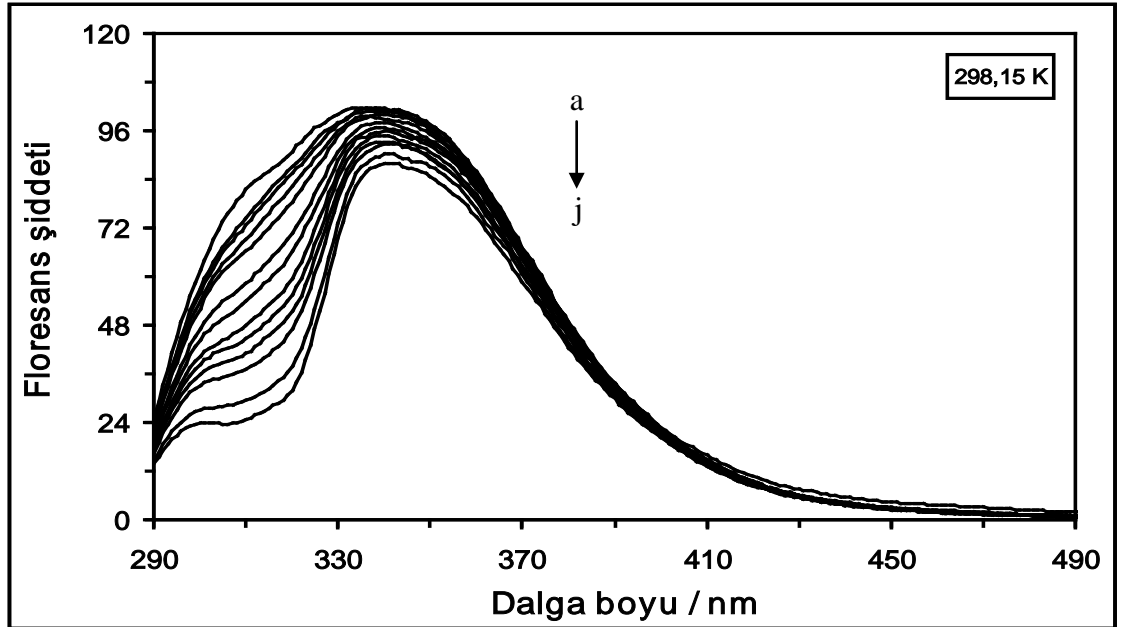
Şekil 4.45. 318,15 K’de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (j) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

Elde edilen spektrumlar incelendiğinde, çözeltideki artan AR konsantrasyonunun HSA proteinine ait floresans spektrumunda herhangi bir değişikliğe yol açmadığı görülmektedir (Bkz. Şekil 4.42-4.45). Bu sonuç, HSA proteini ile AR maddesi arasında bir etkileşimin gerçekleşmediğini göstermektedir. Bu nedenle, gerçekleştirilen çalışmada, HSA-AR sistemi için K_{SV} , K_b , n ve termodinamik parametre değerleri hesaplanamamıştır.

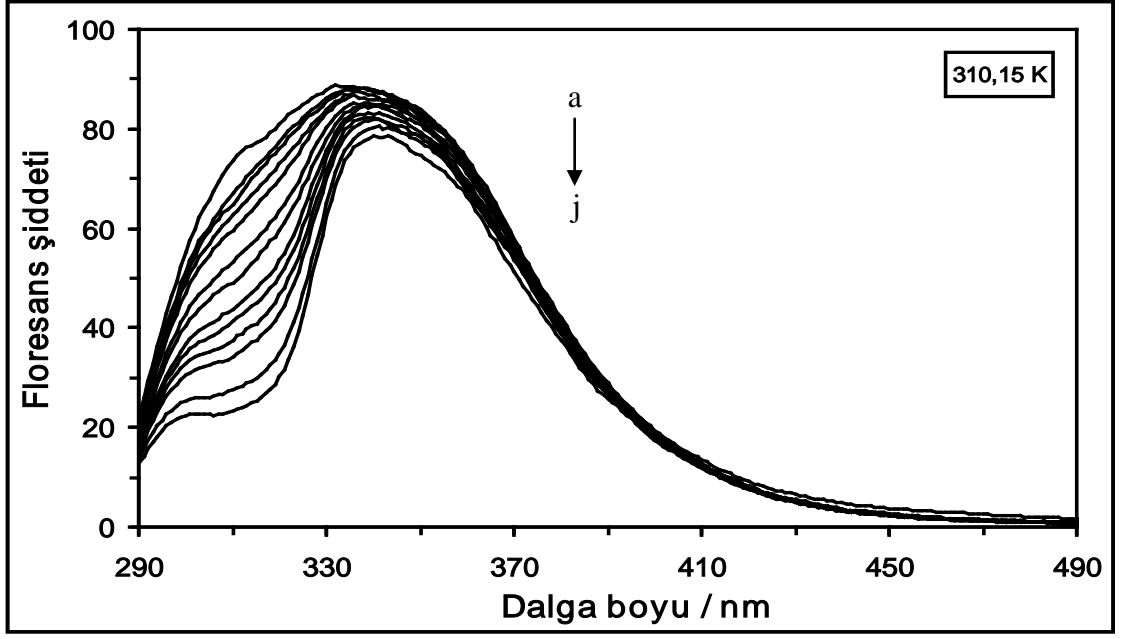
Farklı konsantrasyonlarda DQ maddesi içeren 2×10^{-6} M’lık HSA çözeltisine ait emisyon spektrumları 4 farklı sıcaklık değeri için (288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K’de) kaydedilmiştir. HSA-DQ sistemine ait, iç filtre etkisini gidermek için düzeltme uygulanmış, emisyon spektrumları 288,15 K için Şekil 4.46’da, 298,15 K için Şekil 4.47’de, 310,15 K için Şekil 4.48’de ve 318,15 K için 4.49’da gösterilmektedir.



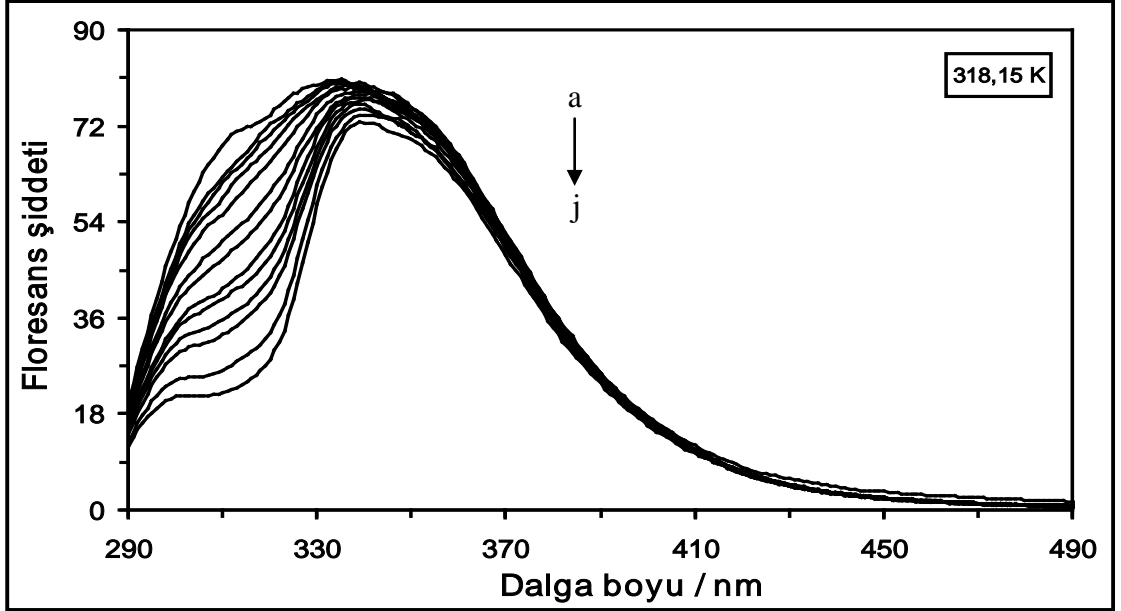
Şekil 4.46. 288,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.47. 298,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.48. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

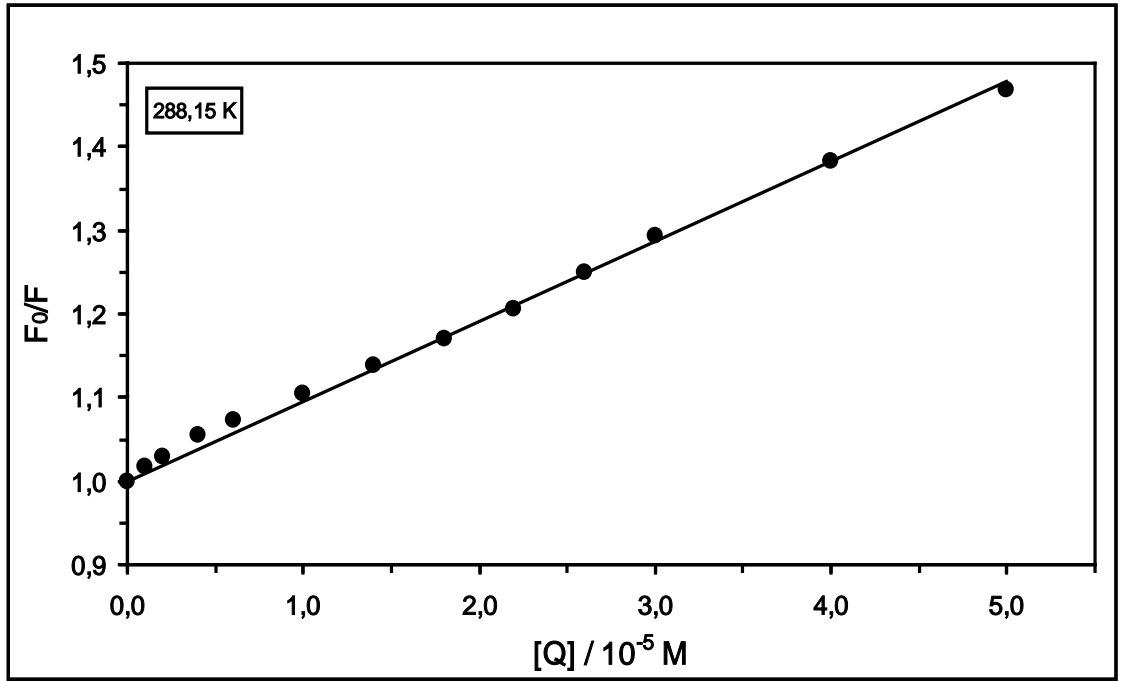


Şekil 4.49. 318,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin emisyon spektrumları. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

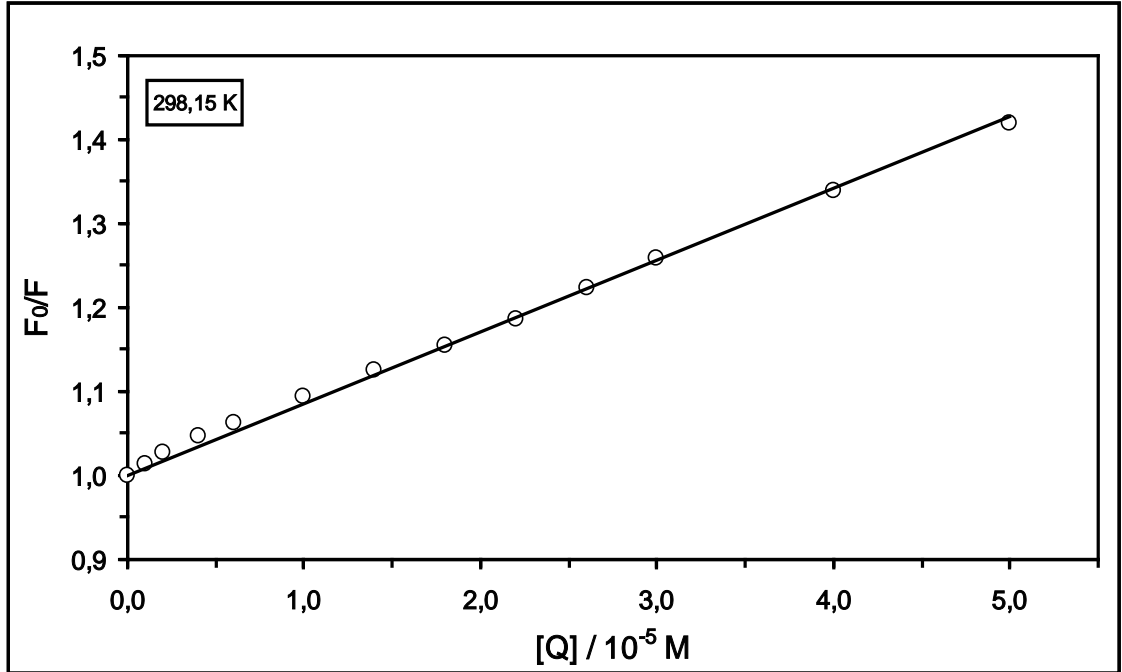
Şekil 4.46-4.49'da yer alan grafiklerde, artan DQ konsantrasyonu HSA proteininin floresans şiddetinde sönümlenmeye yol açmaktadır. Bu durum, HSA proteini ile DQ maddesi arasında bir etkileşimin gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca DQ maddesinin 290-330 nm dalga boyu aralığında güçlü bir sönümleyici olması sebebiyle (Bkz. Şekil 4.25-4.28) belirtilen dalga boyu aralığında HSA proteininin ölçülen floresans şiddetinde önemli bir azalmaya neden olmaktadır.

Floresans spektroskopisi tekniği kullanılarak elde edilen verilerden, Stern-Volmer eşitliği (Denklem (3.2)) aracılığıyla Stern-Volmer sönümleme sabiti (K_{SV}) değerine ulaşılabilmektedir ve böylece HSA proteini ile ligantlar arasında meydana gelen etkileşimlerin mekanizması aydınlatılabilmektedir. K_{SV} değerlerini elde edebilmek için, farklı sıcaklıklarda etkileşim gösteren her bir sistem için çizilen F_0/F değerlerine karşı $[Q]$ değerleri grafiklerinin eğimlerini bilmek gerekmektedir.

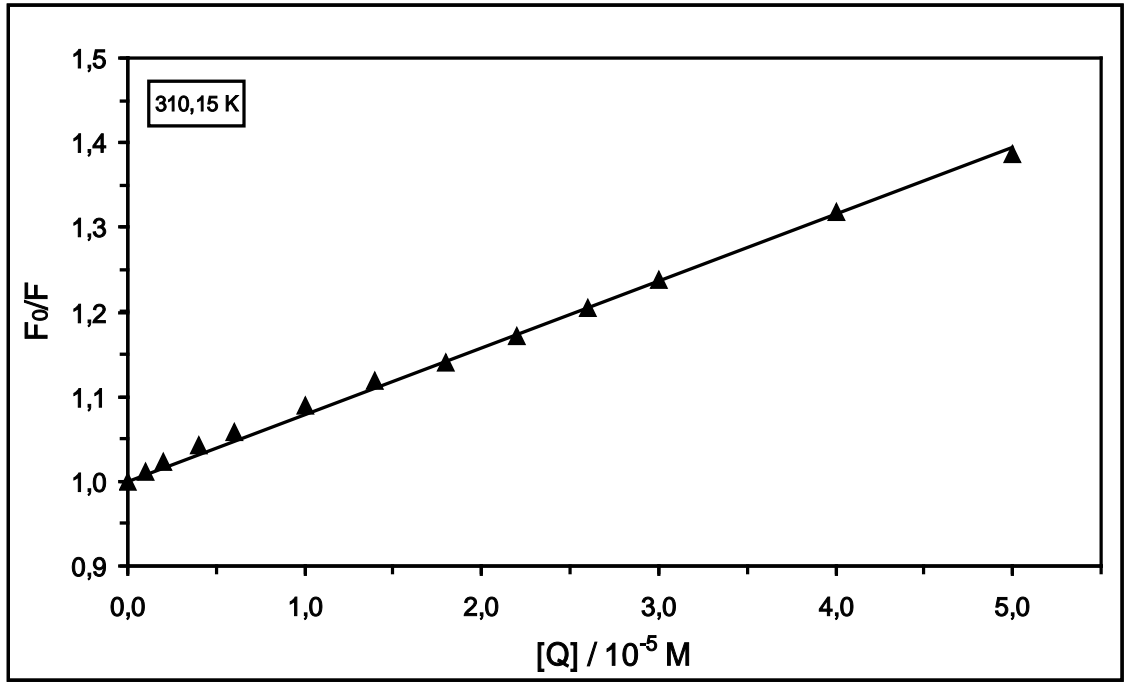
Çalışmada, HSA-AR sistemi hariç tüm HSA-pestisit sistemlerinde bir etkileşim meydana geldiği için HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ sistemleri için K_{SV} değerleri hesaplanmıştır. HSA-DCP sistemine ait Stern-Volmer grafikleri 288,15 K için Şekil 4.50'de, 298,15 K için Şekil 4.51'de, 310,15 K için Şekil 4.52'de ve 318,15 K için Şekil 4.53'te; HSA-CF sistemine ait Stern-Volmer grafikleri 288,15 K için Şekil 4.54'te, 298,15 K için Şekil 4.55'de, 310,15 K için Şekil 4.56'da ve 318,15 K için Şekil 4.57'de ve HSA-DQ sistemine ait Stern-Volmer grafikleri 288,15 K için Şekil 4.58'de, 298,15 K için Şekil 4.59'da, 310,15 K için Şekil 4.60'da ve 318,15 K için Şekil 4.61'de gösterilmektedir.



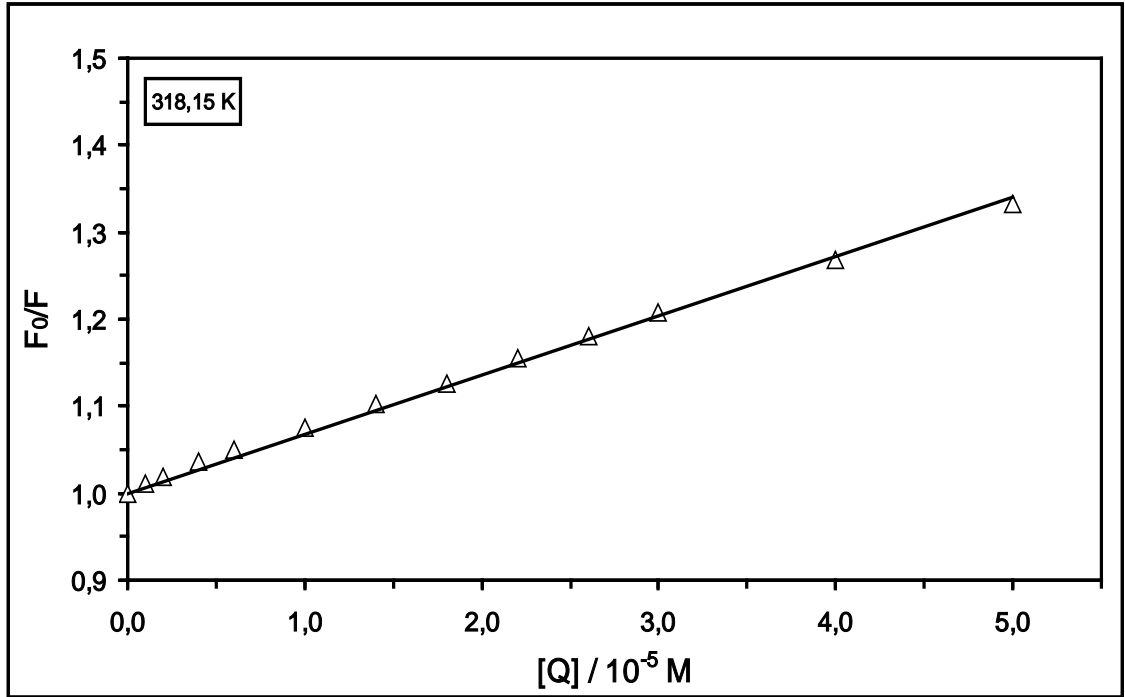
Şekil 4.50. 288,15 K'de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği



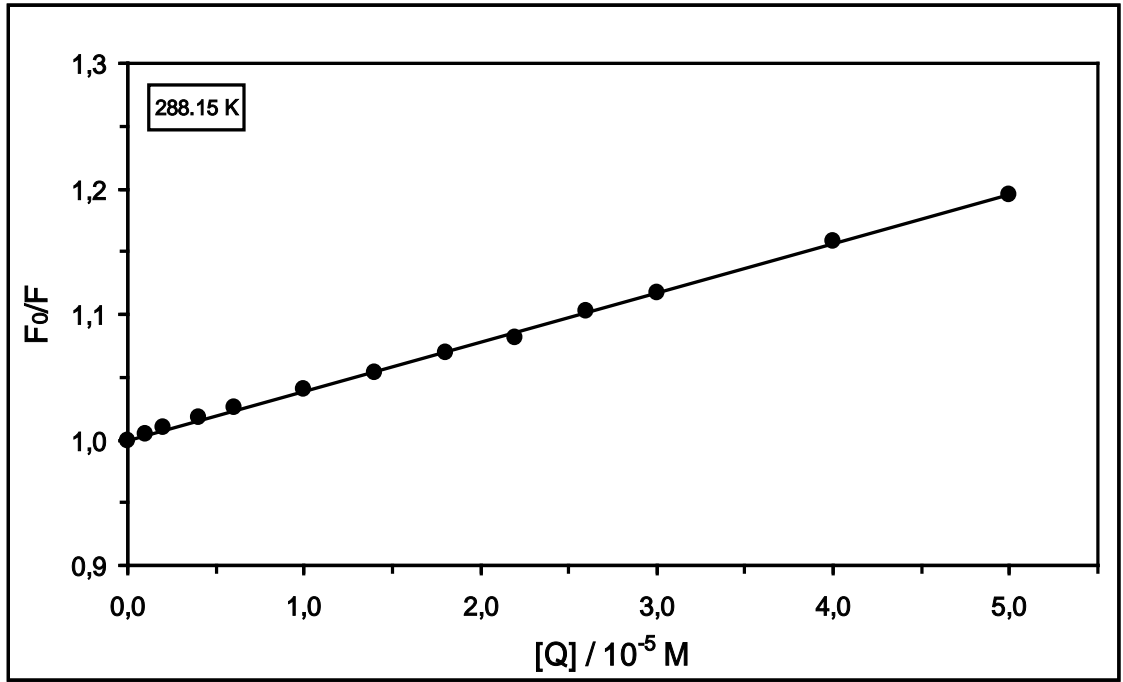
Şekil 4.51. 298,15 K'de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği



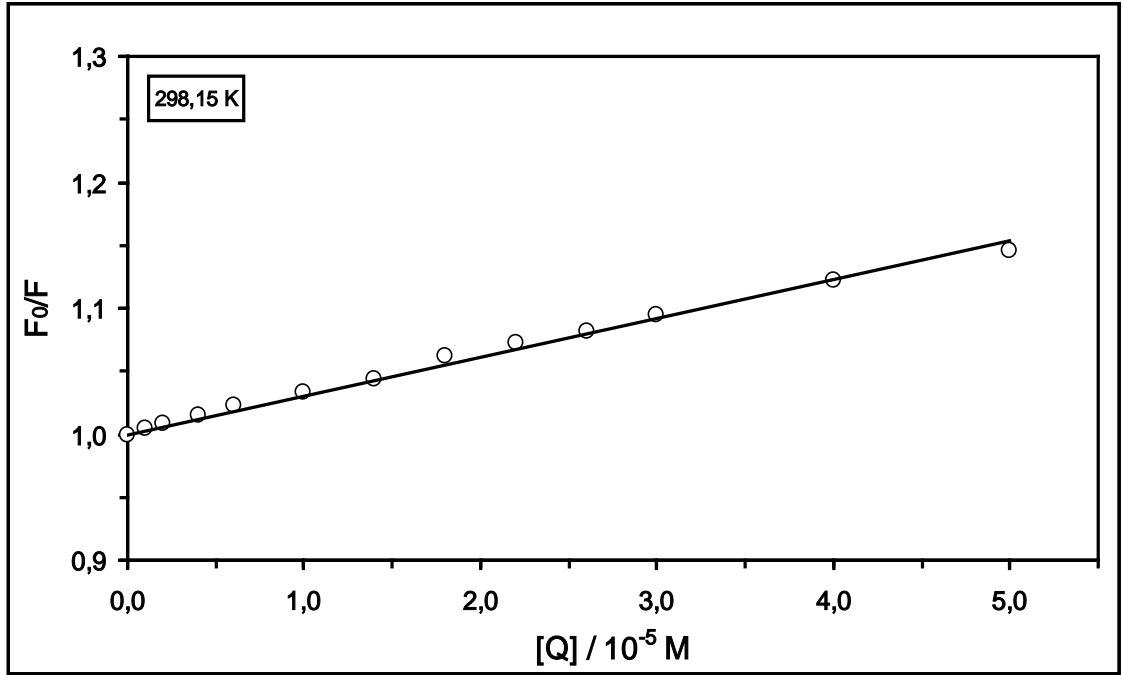
Şekil 4.52. 310,15 K'de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği



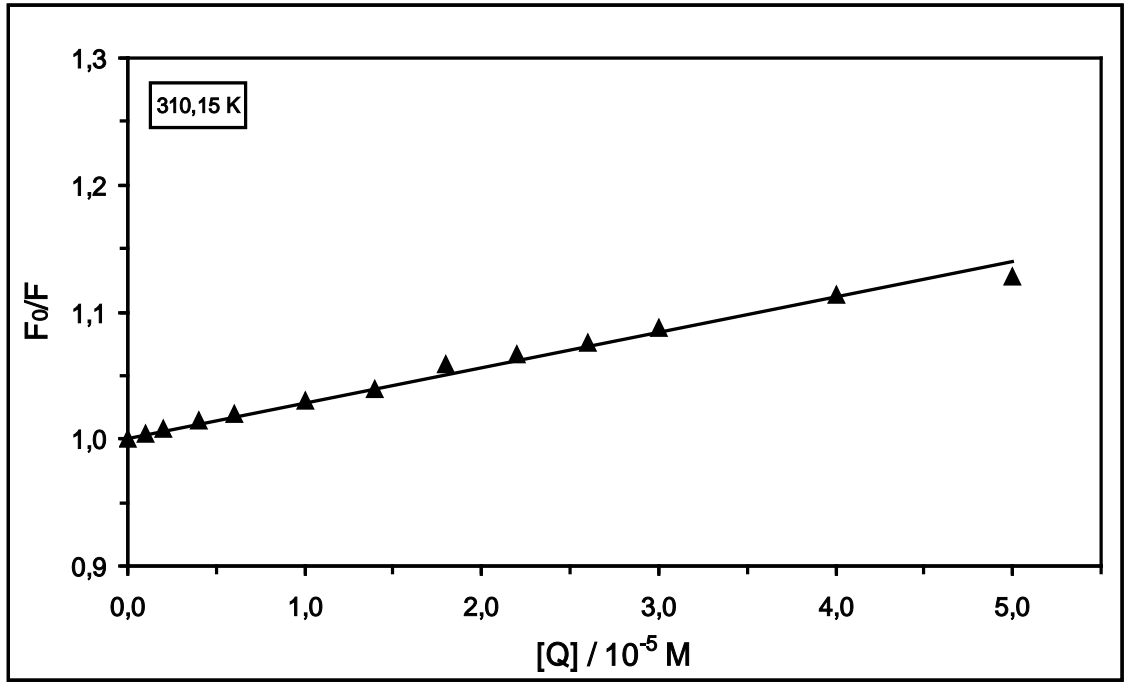
Şekil 4.53. 318,15 K'de HSA-DCP sistemi için Stern-Volmer grafiği



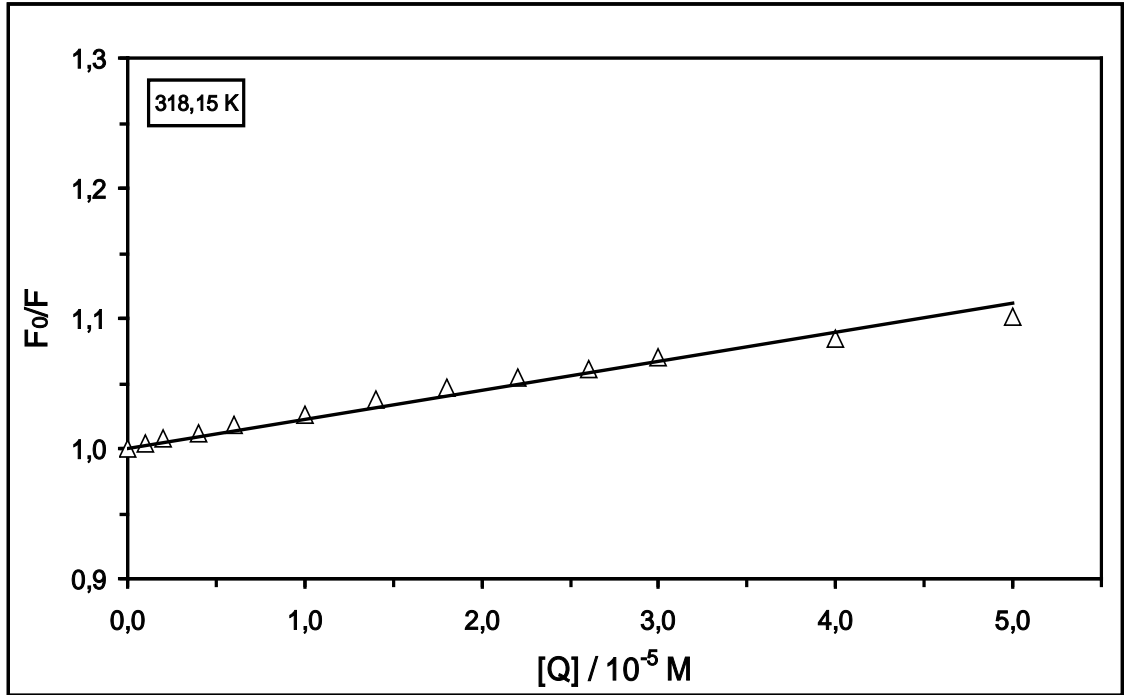
Şekil 4.54. 288,15 K'de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği



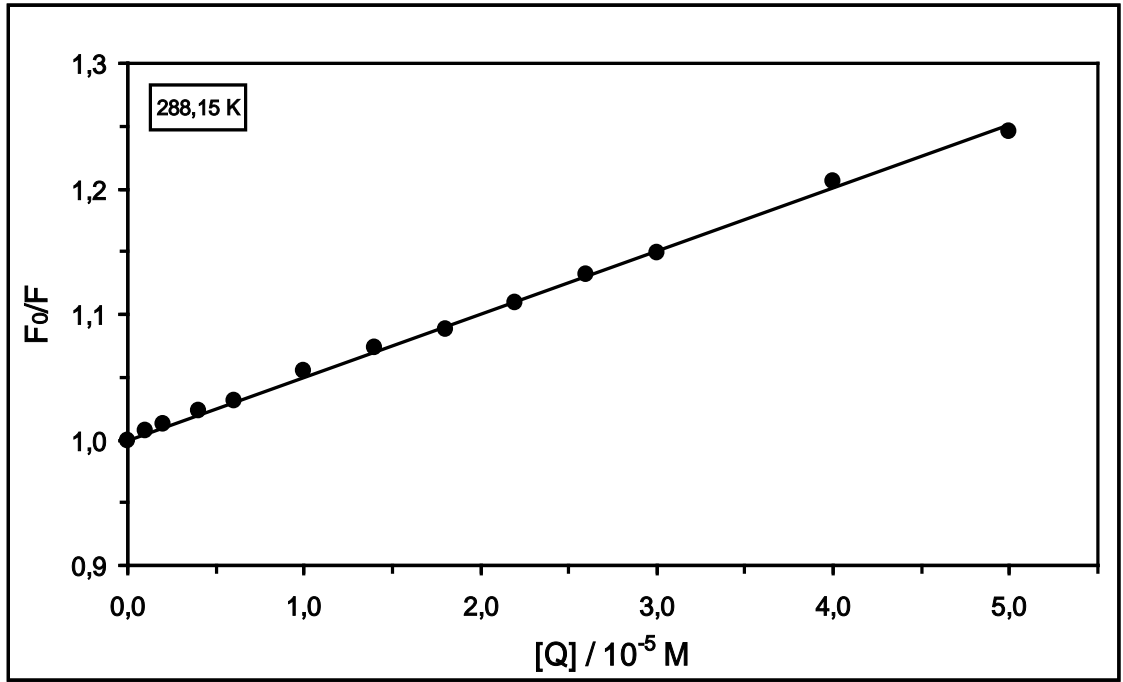
Şekil 4.55. 298,15 K'de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği



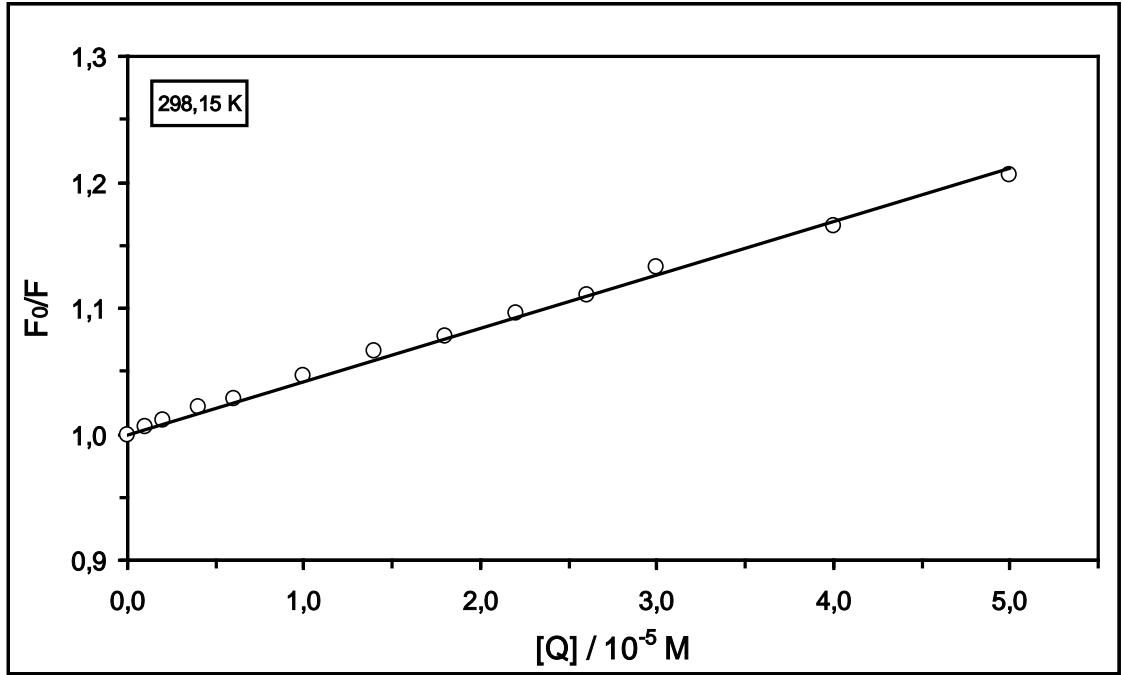
Şekil 4.56. 310,15 K'de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği



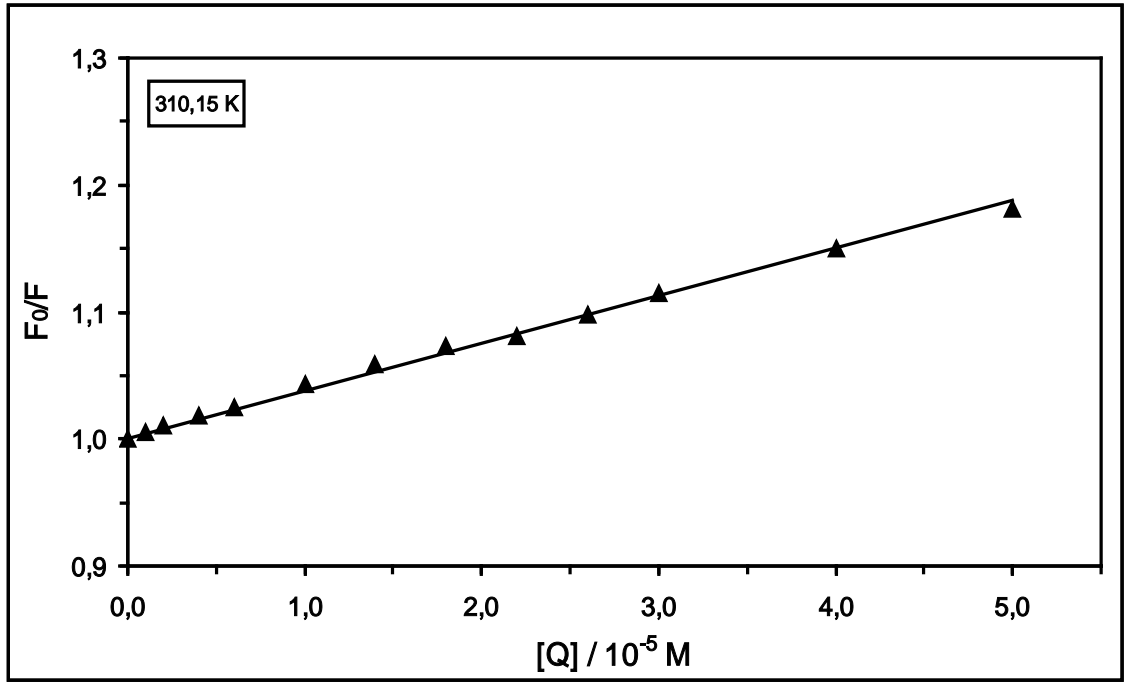
Şekil 4.57. 318,15 K'de HSA-CF sistemi için Stern-Volmer grafiği



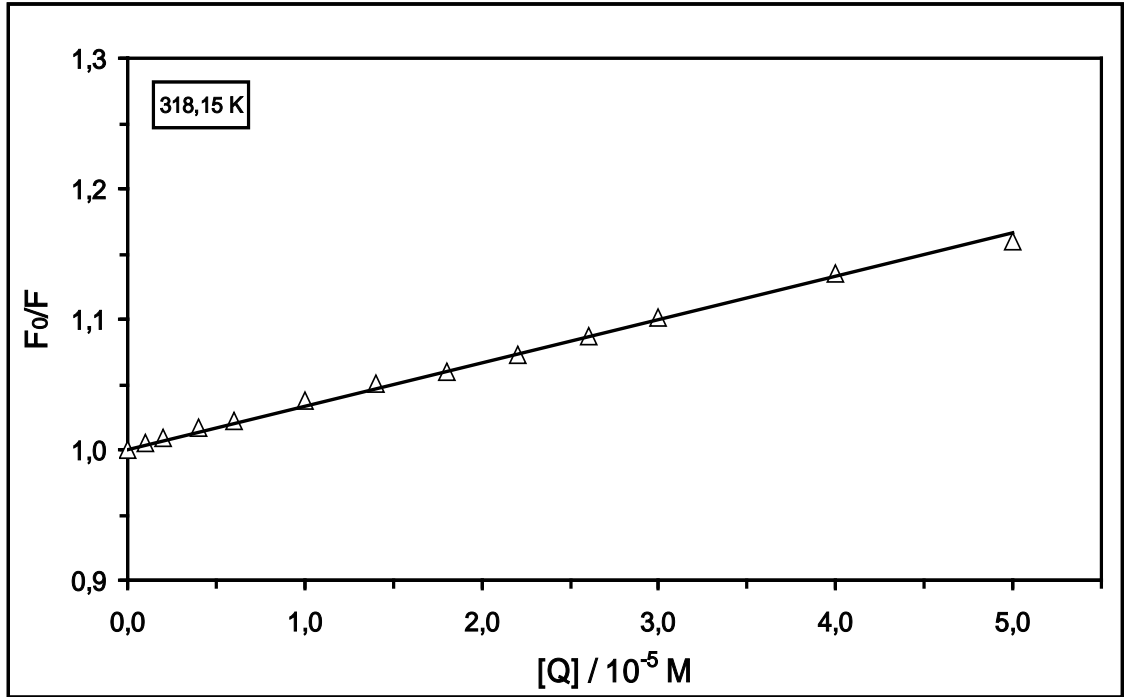
Şekil 4.58. 288,15 K’de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği



Şekil 4.59. 298,15 K’de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği



Şekil 4.60. 310,15 K'de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği



Şekil 4.61. 318,15 K'de HSA-DQ sistemi için Stern-Volmer grafiği

Stern-Volmer grafiklerindeki verilerin (Bkz. Şekil 4.50-4.61) lineer regresyon analizi ile işlenmesi sonucu elde edilen doğrusal grafiklerin eğimlerinden sönmüleme sabiti (K_{SV}) değerleri ve regresyon katsayısı değerleri hesaplanmıştır. Tüm sistemler için sönmüleme hız sabiti (k_q) değeri Denklem (3.2) kullanılarak elde edilmiştir. Hesaplanan bu değerler HSA-DCP sistemi için Çizelge 4.1’de, HSA-CF sistemi için Çizelge 4.22’de ve HSA-DQ sistemi için Çizelge 4.3’te verilmektedir.

Çizelge 4.1. Fizyolojik pH’ta ve farklı sıcaklıklarda DCP’nin HSA ile etkileşimine ilişkin K_{SV} , r ve k_q değerleri

T / K	K_{SV} / M^{-1}	r	$k_q / M^{-1}s^{-1}$
288,15	$9,54(\pm 0,10) \times 10^3$	0,9983	$9,54 \times 10^{11}$
298,15	$8,54(\pm 0,08) \times 10^3$	0,9984	$8,54 \times 10^{11}$
310,15	$7,89(\pm 0,08) \times 10^3$	0,9984	$7,89 \times 10^{11}$
318,15	$6,82(\pm 0,06) \times 10^3$	0,9981	$6,82 \times 10^{11}$

Çizelge 4.2. Fizyolojik pH’ta ve farklı sıcaklıklarda CF’nin HSA ile etkileşimine ilişkin K_{SV} , r ve k_q değerleri

T / K	K_{SV} / M^{-1}	r	$k_q / M^{-1}s^{-1}$
288,15	$3,90(\pm 0,04) \times 10^3$	0,9994	$3,90 \times 10^{11}$
298,15	$3,07(\pm 0,06) \times 10^3$	0,9967	$3,07 \times 10^{11}$
310,15	$2,81(\pm 0,08) \times 10^3$	0,9932	$2,81 \times 10^{11}$
318,15	$2,22(\pm 0,07) \times 10^3$	0,9874	$2,22 \times 10^{11}$

Çizelge 4.3. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda DQ'nun HSA ile etkileşimine ilişkin K_{SV} , r ve k_q değerleri

T / K	K_{SV} / M^{-1}	r	$k_q / M^{-1}s^{-1}$
288,15	$5,02(\pm 0,05) \times 10^3$	0,9992	$5,02 \times 10^{11}$
298,15	$4,22(\pm 0,06) \times 10^3$	0,9980	$4,22 \times 10^{11}$
310,15	$3,76(\pm 0,05) \times 10^3$	0,9975	$3,76 \times 10^{11}$
318,15	$3,32(\pm 0,04) \times 10^3$	0,9982	$3,32 \times 10^{11}$

Sönümlenmeler, statik ve dinamik sönümleme olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Dinamik sönümlemede uyarılmış molekül floresans yapmadan uyarılmış halden temel hale dönmektedir. Statik sönümlemede ise molekül ile sönümleyici floresans yapmayan bir bileşik oluştururlar. İki mekanizma birbirinden sıcaklığa olan bağlılıkları ile ayrılabilir. Dinamik sönümlemede sıcaklık artışı ile birlikte K_{SV} değerlerinde artış gerçekleşirken, statik sönümlemede sıcaklık artışı ile K_{SV} değerlerinde azalma görülmektedir (Lakowicz, 2006).

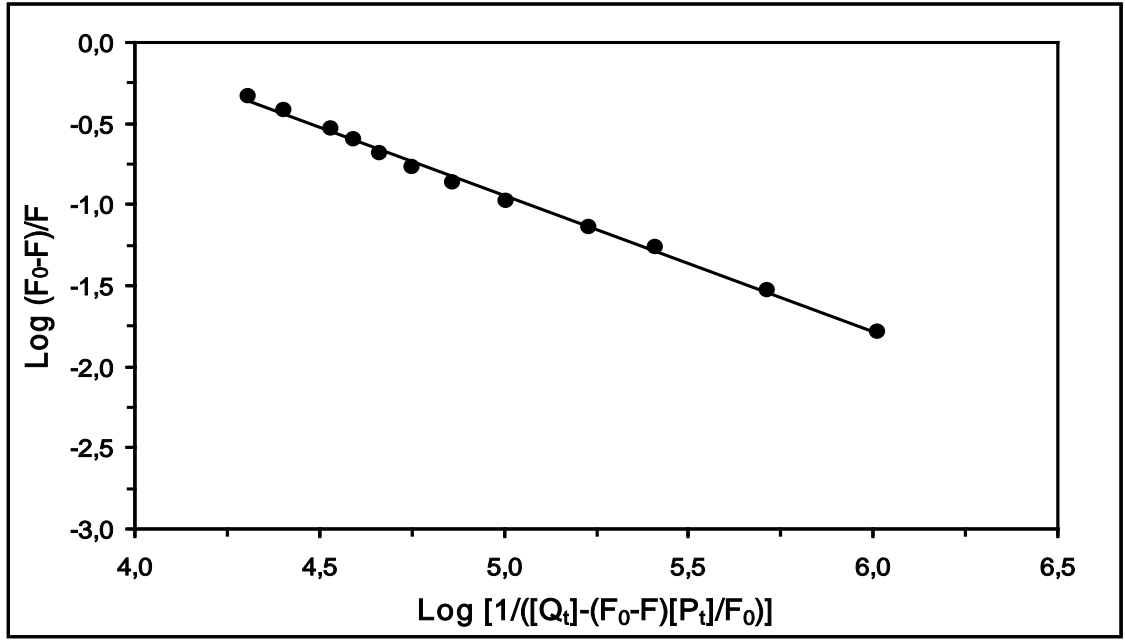
Etkileşim gösteren tüm HSA-pestisit sistemlerine ait K_{SV} değerleri sıcaklıkla birlikte azalma göstermektedir (Bkz. Çizelge 4.1-4.3). Bu durum, tüm sistemler için floresans sönümleme mekanizmasının statik sönümleme yolu ile gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca, tüm HSA-pestisit sistemleri için k_q değerlerinin birçok biyomolekül-sönümleyici madde sistemi için maksimum dağılıma-çarpışma sönümleme sabiti değeri olan $2,00 \times 10^{10} M^{-1}s^{-1}$ 'den büyük olması da sistemlerde statik sönümlemenin baskın olduğunu belirtmektedir (Ding vd 2009).

Xu vd (2007), bir organofosfor pestisit olan fentoat ile BSA proteini arasındaki etkileşimi incelemişler ve etkileşime ait K_{SV} değerini 303 K için $3,4295 \times 10^4 M^{-1}$ olarak, 306 K için $3,2446 \times 10^4 M^{-1}$ olarak, 310 K için $3,0434 \times 10^4 M^{-1}$ olarak ve 313 K için $2,8262 \times 10^4 M^{-1}$ olarak bulmuşlardır. Bu sonuçtan yararlanılarak, fentoat ile BSA proteini arasındaki etkileşimin statik sönümleme yolu ile olduğu belirtilmiştir (Xu vd 2007). Ding vd (2010c), pirazosülfüron-etil ile HSA proteini arasındaki etkileşimleri

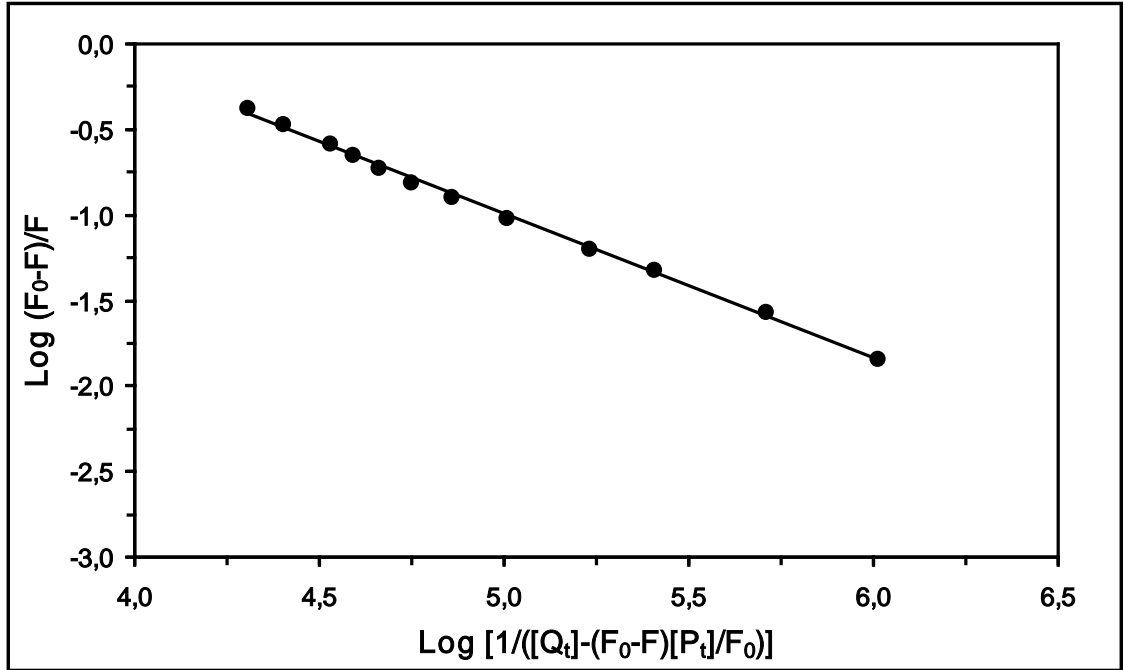
incelemişler, sisteme ait K_{SV} değerlerini hesaplamışlar ve HSA-pirazosülfüron-etil sistemi için K_{sv} değerini 291 K'de $2,860 \times 10^5 M^{-1}$, 297 K'de $2,693 \times 10^5 M^{-1}$, 303 K'de $2,542 \times 10^5 M^{-1}$ ve 309 K'de $2,367 \times 10^5 M^{-1}$ olarak bulmuşlardır. HSA ile pirazosülfüron-etil arasında gerçekleşen etkileşimin statik sönümlenme yolu ile gerçekleştiği anlaşılmıştır (Ding vd 2010c). Han vd (2009), QUC maddesi ile BSA proteini arasındaki etkileşimi incelemişler ve etkileşime ait K_{SV} değerini 292 K için $6,552 \times 10^4 M^{-1}$, 298 K için $7,070 \times 10^4 M^{-1}$, 304 K için $7.444 \times 10^4 M^{-1}$ ve 310 K için $7.972 \times 10^4 M^{-1}$ olarak hesaplamışlardır. Bu sonuçlardan yola çıkılarak, BSA ile QUC arasında meydana gelen etkileşimin dinamik sönümlenme yoluyla gerçekleştiği belirtilmiştir (Han vd 2009).

4.2. Etkileşim Gösteren HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ Sistemleri İçin Bağlanma Sabiti Değerleri ve Bağlanma Yeri Sayıları

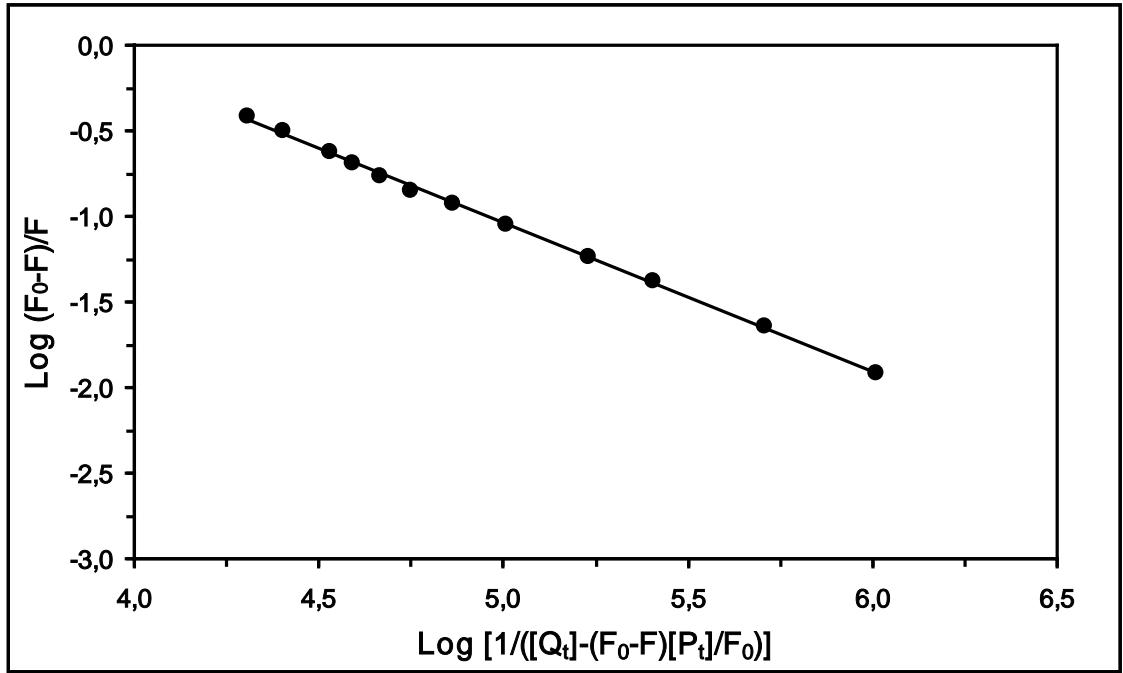
HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ sistemlerinin 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K'de gerçekleşen etkileşimlerine ait bağlanma sabiti (K_b) değerleri ve bağlanma yeri sayısı (n) Denklem (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır. 288,15 K'de HSA-DCP sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.62'de, 298,15 K'de HSA-DCP sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.63'te, 300,15 K'de HSA-DCP sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.64'te, 318,15 K'de HSA-DCP sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.65'de, 288,15 K'de HSA-CF sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.66'da, 298,15 K'de HSA-CF sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.67'de, 300,15 K'de HSA-CF sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.68'de, 318,15 K'de HSA-CF sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.69'da, 288,15 K'de HSA-DQ sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.70'de, 298,15 K'de HSA-DQ sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.71'de, 300,15 K'de HSA-DQ sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.72'de ve 318,15 K'de HSA-DQ sistemine ait $\log (F_0-F)/F'$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği Şekil 4.73'te verilmektedir.



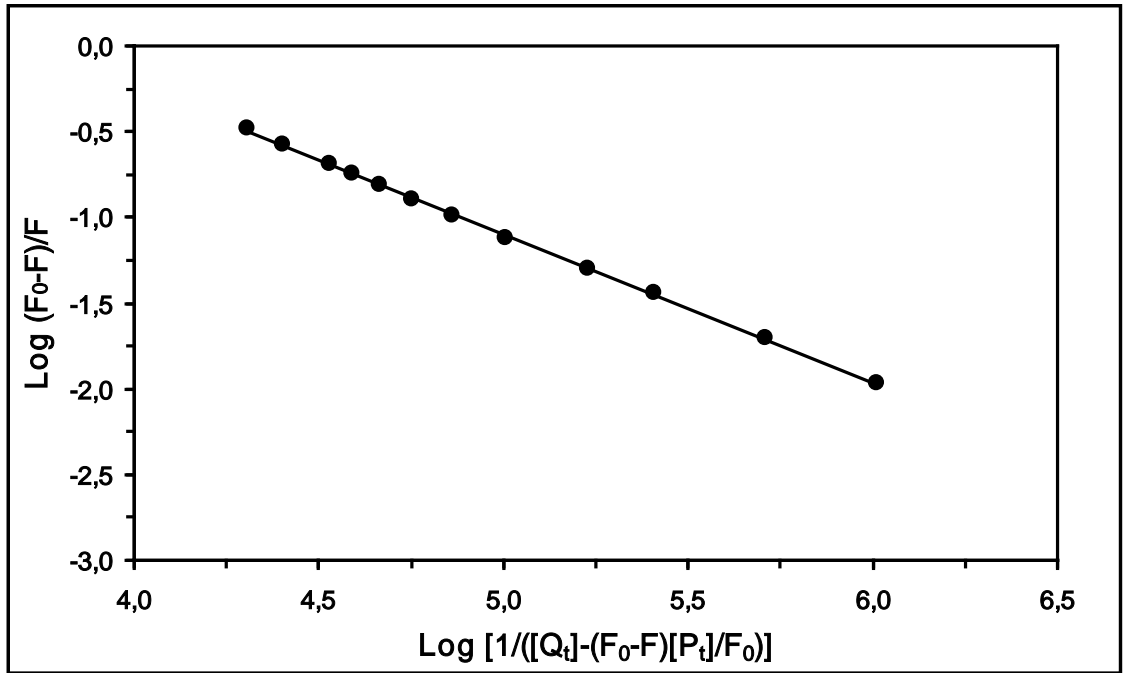
Şekil 4.62. 288,15 K'de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



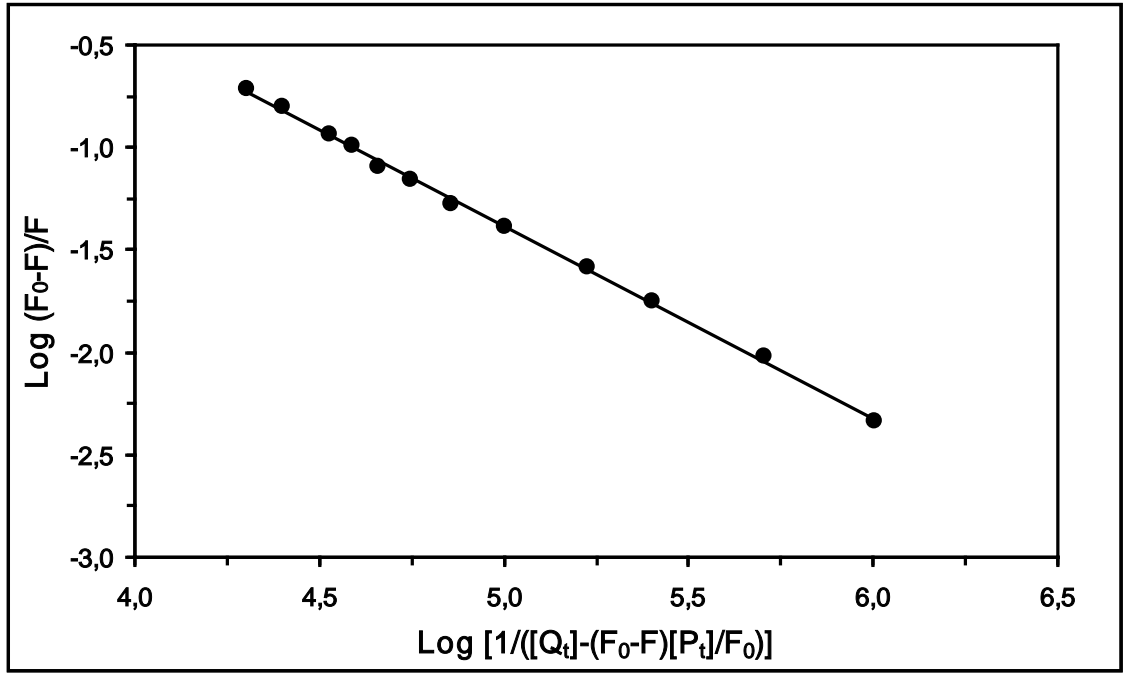
Şekil 4.63. 298,15 K'de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ 'ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



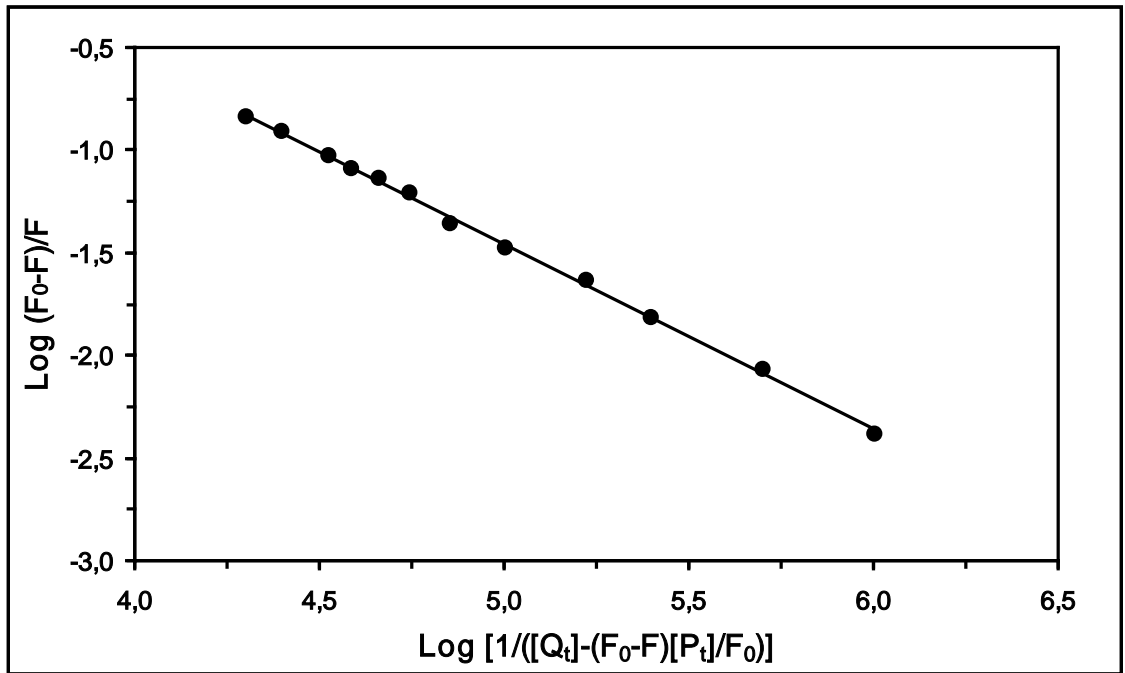
Şekil 4.64. 310,15 K’de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



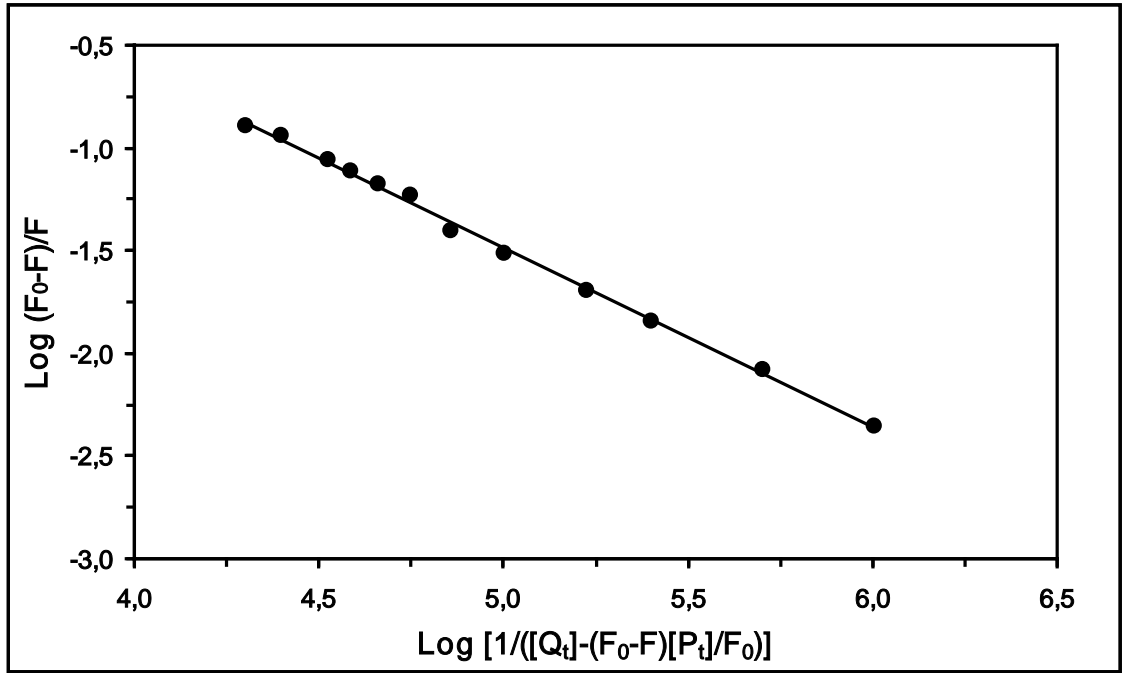
Şekil 4.65. 318,15 K’de HSA-DCP sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



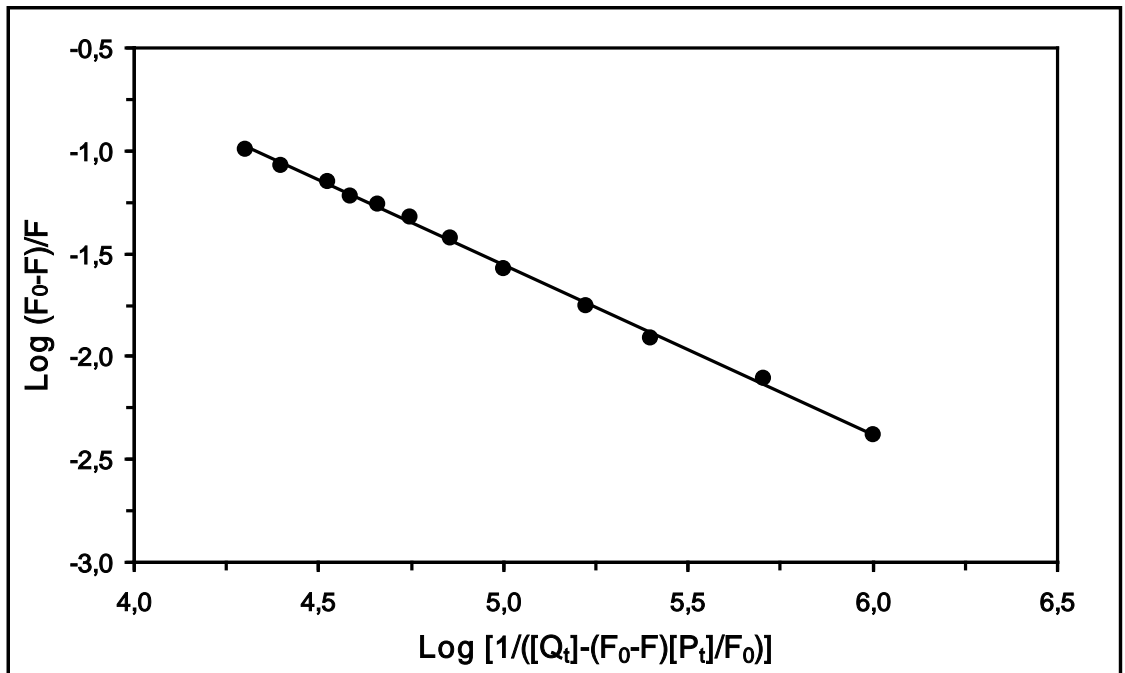
Şekil 4.66. 288,15 K’de HSA-CF sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



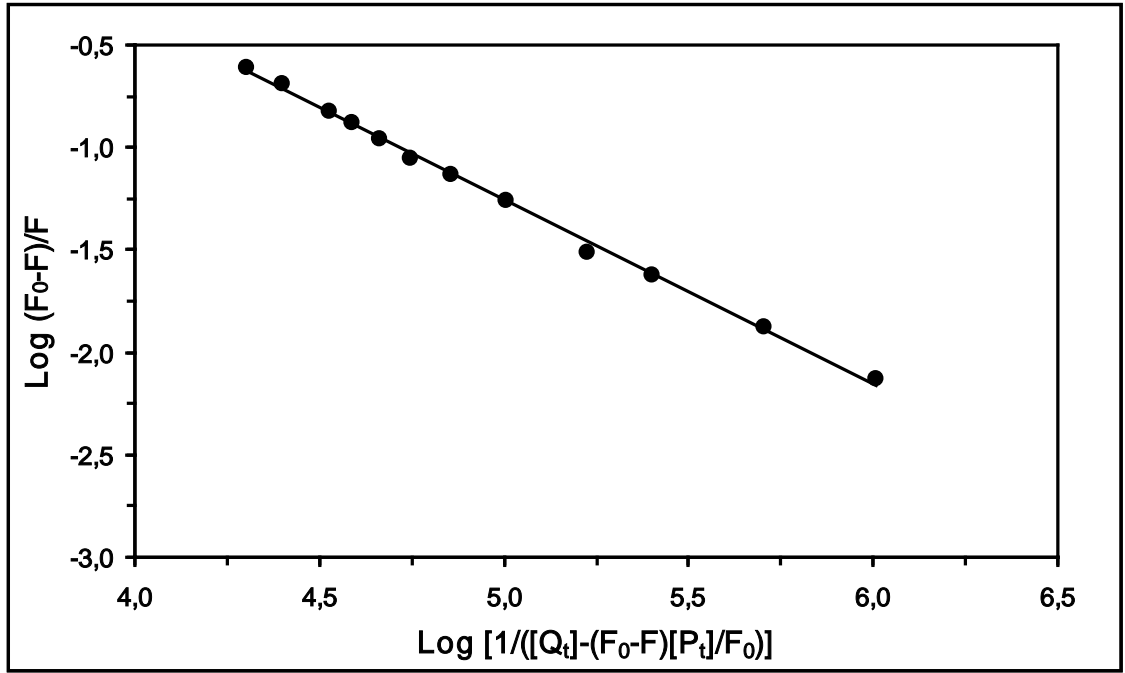
Şekil 4.67. 298,15 K’de HSA-CF sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



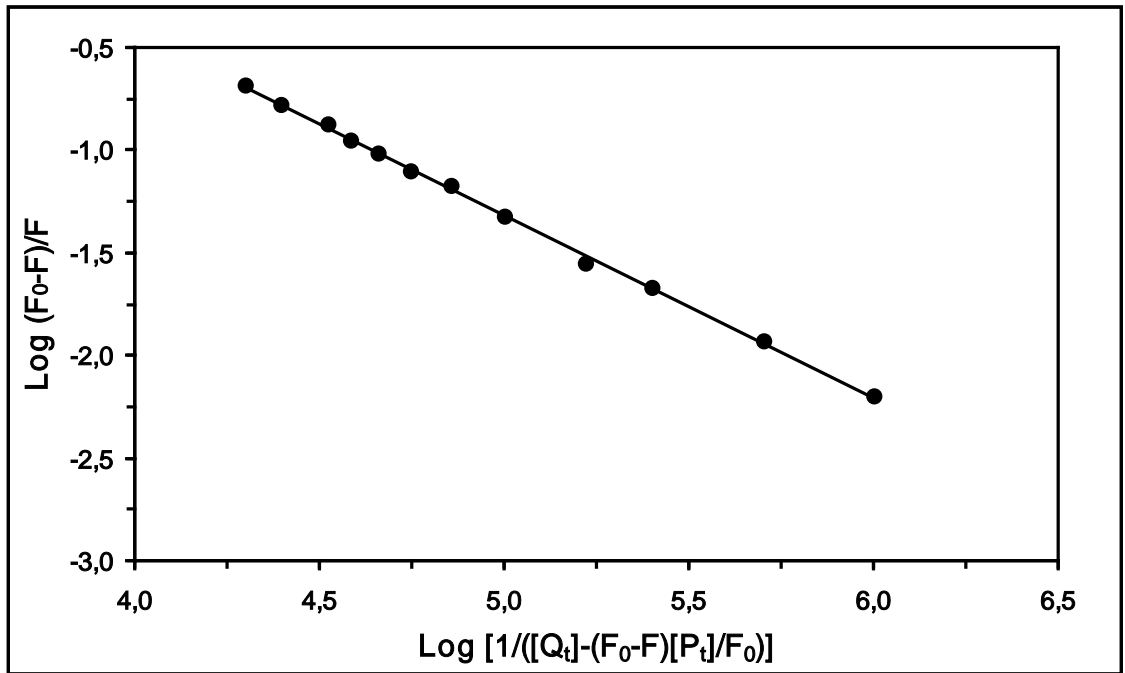
Şekil 4.68. 310,15 K’de HSA-CF sistemi için $\text{log } (F_0 - F)/F$ ’ye karşı $\text{log } [1/([Q_t] - (F_0 - F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



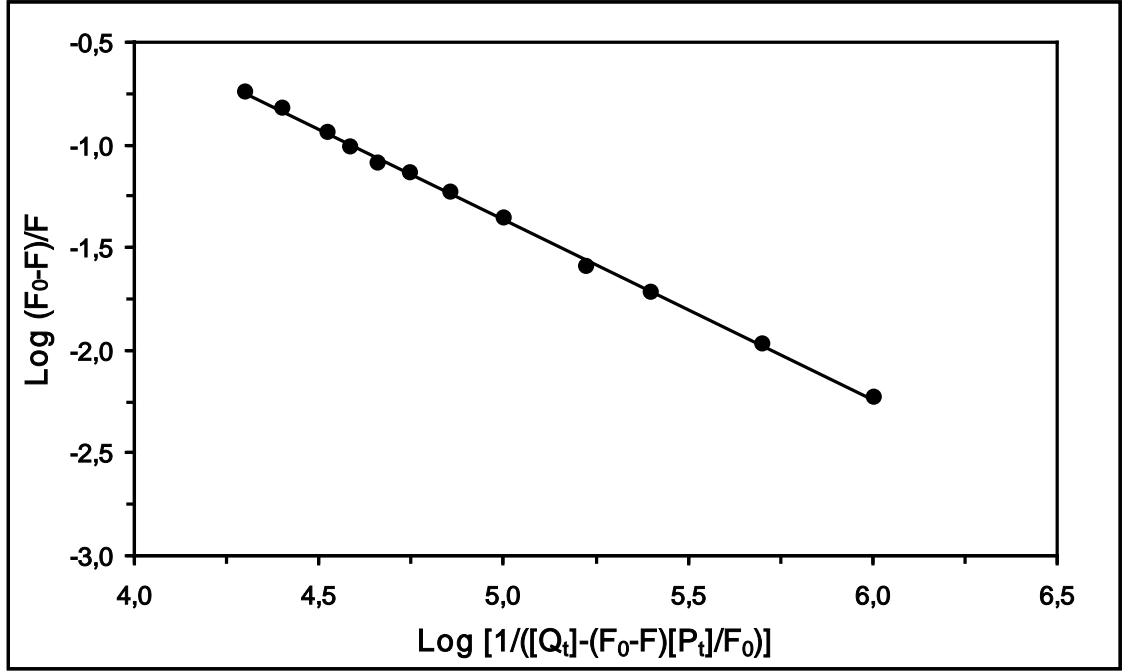
Şekil 4.69. 318,15 K’de HSA-CF sistemi için $\text{log } (F_0 - F)/F$ ’ye karşı $\text{log } [1/([Q_t] - (F_0 - F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



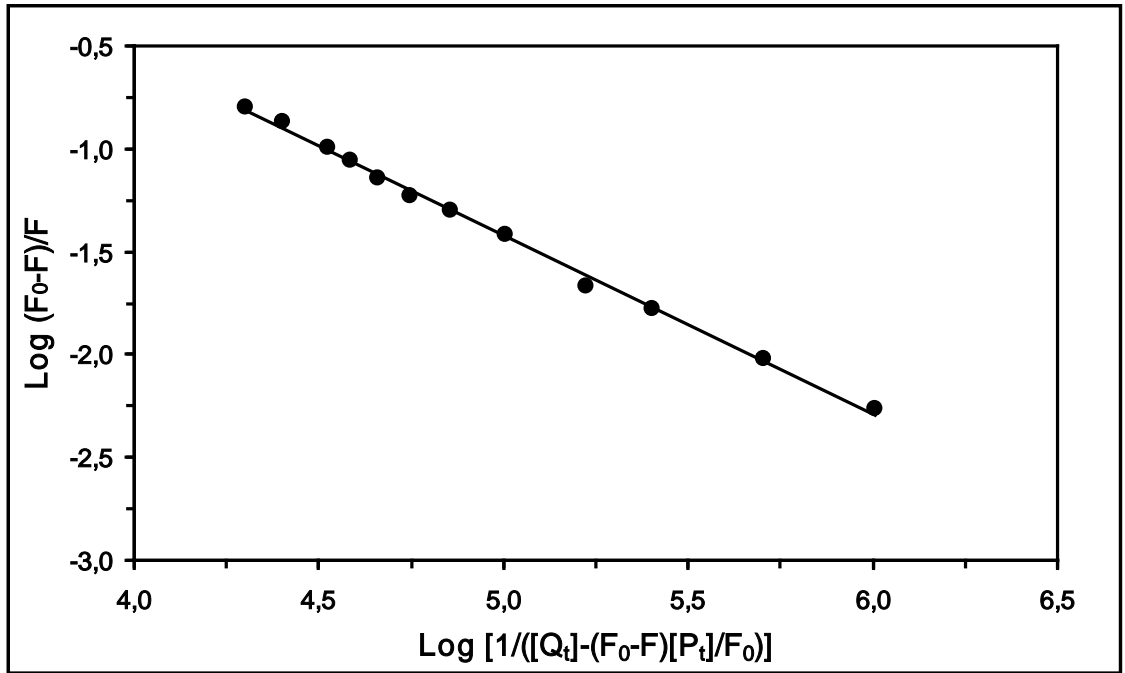
Şekil 4.70. 288,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



Şekil 4.71. 298,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



Şekil 4.72. 310,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği



Şekil 4.73. 318,15 K’de HSA-DQ sistemi için $\log (F_0-F)/F$ ’ye karşı $\log [1/([Q_t]-(F_0-F)[P_t]/F_0)]$ grafiği

Elde edilen lineer grafiklerin (Bkz. Şekil 4.62-4.73) eğim ve kayım değerlerinden yararlanılarak her bir sistem için K_b ve n değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar HSA-DCP sistemi için Çizelge 4.4'te, HSA-CF sistemi için Çizelge 4.5'te ve HSA-DQ için Çizelge 4.6'da verilmektedir.

Çizelge 4.4. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda DCP'nin HSA'ya bağlanmasına ait K_b , n ve r değerleri

T / K	K_b / M^{-1}	n	r
288,15	$7,48 \times 10^3$	0,84	0,9986
298,15	$6,62 \times 10^3$	0,84	0,9990
310,15	$6,36 \times 10^3$	0,87	0,9994
318,15	$5,39 \times 10^3$	0,86	0,9997

Çizelge 4.5. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda CF'nin HSA'ya bağlanmasına ait K_b , n ve r değerleri

T / K	K_b / M^{-1}	n	r
288,15	$3,38 \times 10^3$	0,94	0,9994
298,15	$2,43 \times 10^3$	0,90	0,9993
310,15	$2,01 \times 10^3$	0,88	0,9988
318,15	$1,29 \times 10^3$	0,82	0,9992

Çizelge 4.6. Fizyolojik pH'ta ve farklı sıcaklıklarda DQ'nun HSA'ya bağlanmasına ait K_b , n ve r değerleri

T / K	K_b / M^{-1}	n	r
288,15	$4,04 \times 10^3$	0,90	0,9988
298,15	$3,31 \times 10^3$	0,89	0,9994
310,15	$2,80 \times 10^3$	0,88	0,9995
318,15	$2,36 \times 10^3$	0,87	0,9987

Çizelge 4.4-4.6 incelendiğinde, sıcaklık artışı ile birlikte tüm HSA-pestisit sistemlerine ait bağlanma sabitlerinde bir azalmanın gerçekleştiği görülmektedir. HSA-DCP sistemi için sıcaklığın 288,15 K'den 318,15 K'e artırılması ile bağlanma sabiti değeri, $7,48 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'den $5,39 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'e düşmektedir ve bağlanma yeri sayısı yaklaşık 1'dir (Bkz. Çizelge 4.4). HSA-CF sistemi için sıcaklığın 288,15 K'den 318,15 K'e artırılması ile bağlanma sabiti değerinin $3,38 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'den $1,29 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'e düştüğü, bağlanma yeri sayısının 0,94'ten 0,82'ye düştüğü görülmektedir (Bkz. Çizelge 4.5). HSA-DQ sistemi için ise sıcaklığın 288,15 K'den 318,15 K'e artırılması ile bağlanma sabiti değeri $4,04 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'den $2,36 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'e ve bağlanma yeri sayısı da 0,90'dan 0,87'ye düşmektedir (Bkz. Çizelge 4.6).

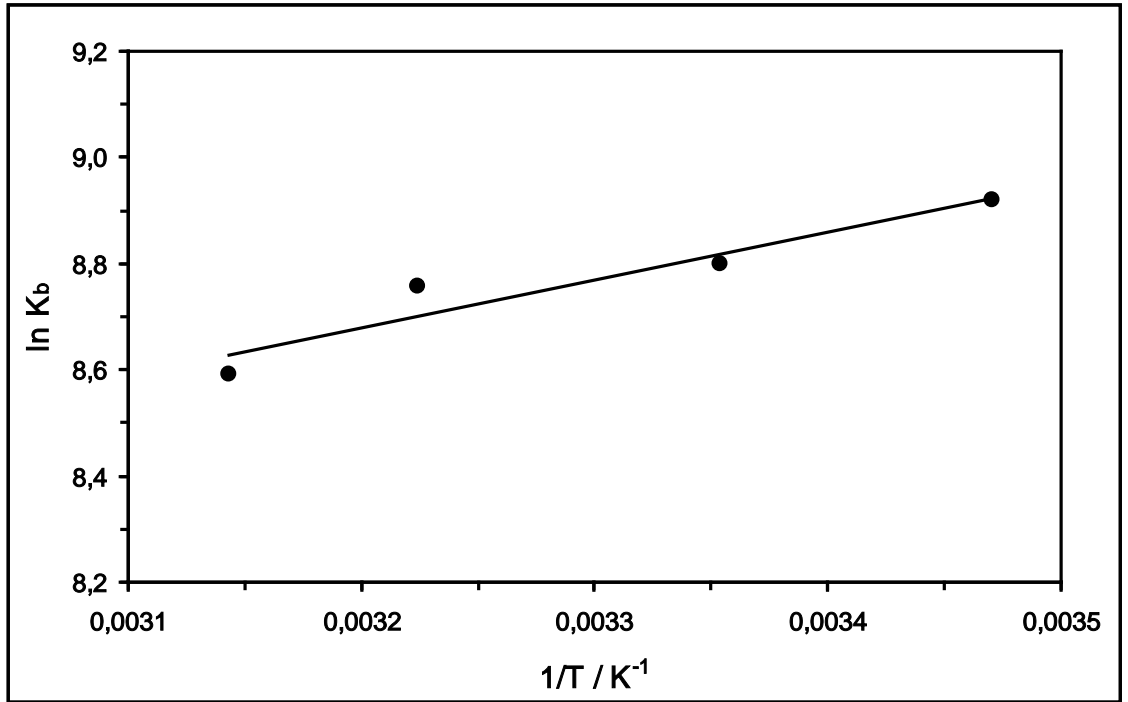
Ding vd (2010c), HSA-pirazosülfüron (PY) sistemi için sıcaklığın 291 K'den 309 K'e artırılması ile birlikte bağlanma sabiti değerinin $4,905 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 'den $3,318 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 'e düştüğünü bulmuşlardır (Ding vd 2010c). Bir başka çalışmada ise Ni vd (2012), BSA proteini ile metolaklor ve s-metolaklor arasındaki etkileşimleri incelemişler ve bağlanma sabiti değerlerini hesaplamışlardır. BSA-metolaklor sistemi için bağlanma sabiti değerleri sıcaklığın artması sonucu $11,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 'den $10 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 'e düşmüştür. BSA-s-metolaklor sistemi için ise bu değer sıcaklığın artırılmasıyla $9,46 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 'den $8,24 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 'e azalmıştır (Ni vd 2012). Xu vd (2007) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise BSA ile fentoat maddesi arasındaki etkileşimler incelenmiş ve bağlanma sabiti değerlerinin sıcaklık artışı ile birlikte $1,49 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 'den $1,27 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 'e düştüğü belirtilmiştir.

4.3. Etkileşim Gösteren HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ Sistemleri İçin Hesaplanan Termodinamik Parametreler ve Etkileşimlerdeki Bağlanma Kuvvetleri

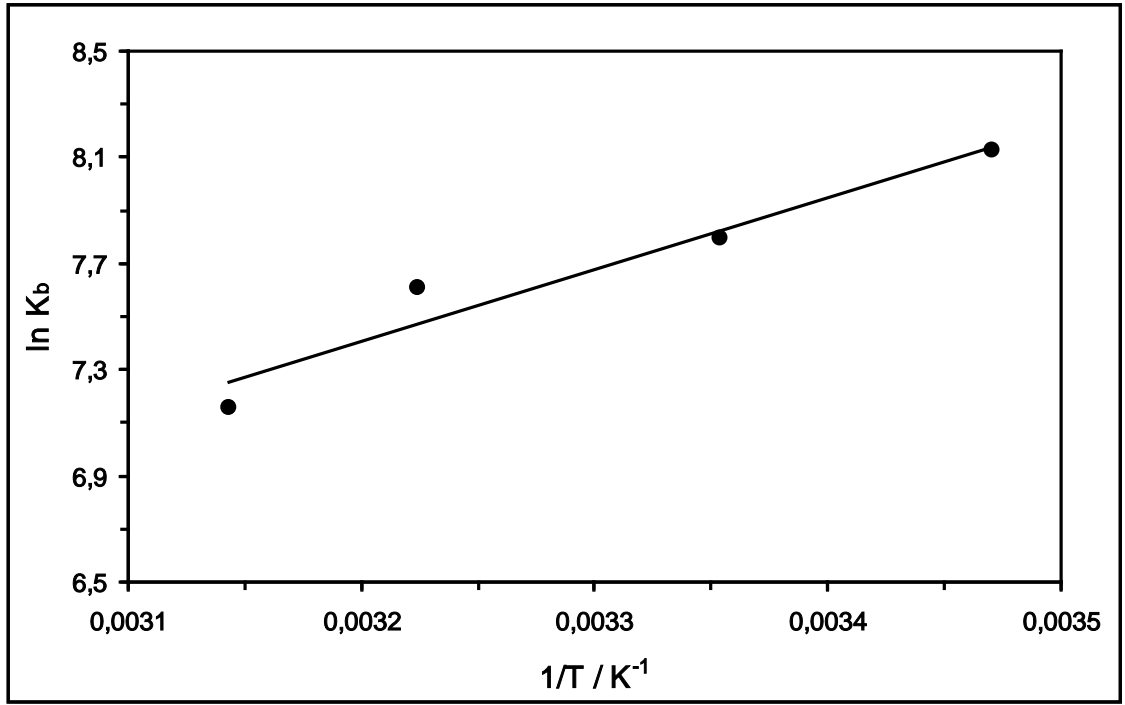
Biyomakromoleküller ile küçük moleküller arasında hidrojen bağı, van der Waals kuvveti, elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler olmak üzere dört esas etkileşim bulunmaktadır (Ni vd 2008). HSA ile pestisitler arasındaki etkileşimlerin doğasını belirlemek için termodinamik parametre değerleri hesaplanmıştır. Denklem (3.4) kullanılarak entalpi değişim (ΔH) ve entropi değişim (ΔS) değerleri belirlenmiştir.

Etkileşim türünün belirlenmesinde termodinamik parametrelerin büyüklüğü ve işareti önemlidir. Pozitif ΔS ve pozitif ΔH değerleri, hidrofobik etkileşimin varlığını temsil etmektedir (Ross ve Subramanian 1981). Negatif ΔH ve ΔS değerleri de hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetlerinin etkin olduğunu gösterir. Düşük ve pozitif (veya negatif) ΔH değeri ile negatif ΔS değeri ise iyonik etkileşimler ile karakterize edilir (Timaseff 1972, Ross ve Subramanian 1981, Maiti vd 2006). Negatif ΔG değeri bağlanma işleminin kendiliğinden gerçekleştiğini gösterir (Timaseff 1972, Ross ve Subramanian 1981, Maiti vd 2006).

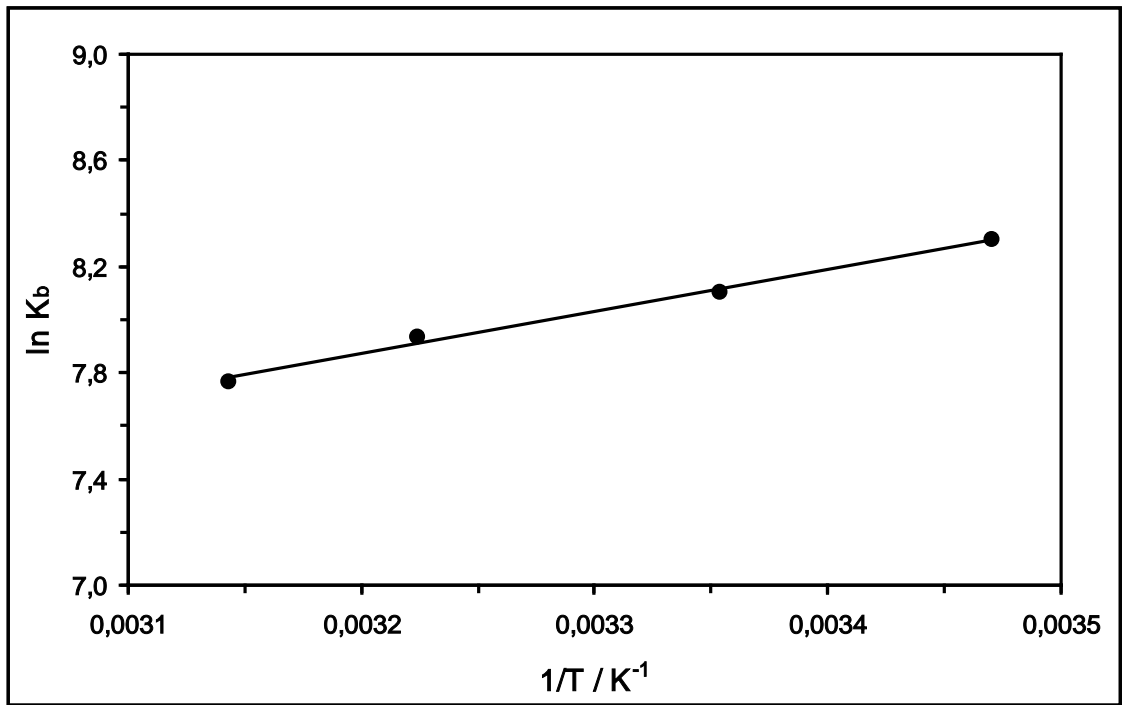
Tüm HSA-pestisit sistemlerine ait 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K sıcaklıkta hesaplanan K_b değerleri kullanılarak, van't Hoff eşitliğine ((Denklem (3.4)) göre $\ln K_b$ 'ya karşı $1/T$ grafiği çizilmiştir. Çizilen van't Hoff grafikleri HSA-DCP sistemi için Şekil 4.74'te, HSA-CF sistemi için Şekil 4.75'te ve HSA-DQ sistemi için Şekil 4.76'da verilmektedir.



Şekil 4.74. DCP'nin HSA'ya bağlanmasına ait van't Hoff grafiği ($r= 0,9538$)



Şekil 4.75. CF'nin HSA'ya bağlanmasına ait van't Hoff grafiği (r= 0,9709)



Şekil 4.76. DQ'nun HSA'ya bağlanmasına ait van't Hoff grafiği (r= 0,9965)

Tüm HSA-pestisit sistemleri için van't Hoff grafiklerinin (Bkz. Şekil 4.74-4.76) eğimlerinden elde edilen ΔH , kayımlarından elde edilen ΔS ve Denklem (3.5)'in kullanılması ile hesaplanan ΔG termodinamik parametre değerleri HSA-DCP sistemi için Çizelge 4.7'de, HSA-CF sistemi için Çizelge 4.8'de ve HSA-DQ sistemi için Çizelge 4.9'da yer almaktadır.

Çizelge 4.7. Fizyolojik pH'ta DCP'nin HSA'ya bağlanmasına ilişkin prosese ait termodinamik parametre değerleri

T / K	$\Delta H / \text{kJ.mol}^{-1}$	$\Delta S / \text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$	$\Delta G / \text{kJ.mol}^{-1}$
288,15	- 7,48	48,22	- 21,38
298,15			- 21,86
310,15			- 22,44
318,15			- 22,82

Çizelge 4.8. Fizyolojik pH'ta CF'nin HSA'ya bağlanmasına ilişkin prosese ait termodinamik parametre değerleri

T / K	$\Delta H / \text{kJ.mol}^{-1}$	$\Delta S / \text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$	$\Delta G / \text{kJ.mol}^{-1}$
288,15	- 22,60	- 10,75	- 19,50
298,15			- 19,40
310,15			- 19,27
318,15			- 19,18

Çizelge 4.9. Fizyolojik pH'ta DQ'nun HSA'ya bağlanmasına ilişkin prosese ait termodinamik parametre değerleri

T / K	$\Delta H / \text{kJ.mol}^{-1}$	$\Delta S / \text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$	$\Delta G / \text{kJ.mol}^{-1}$
288,15	- 13,25	23,03	- 19,89
298,15			- 20,12
310,15			- 20,40
318,15			- 20,58

HSA-DCP sistemi için Çizelge 4.7'de verilen termodinamik parametre değerleri incelendiğinde, ΔH değerinin $-7,48 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ΔS değerinin $48,22 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olduğu görülmektedir. Bu durum, DCP maddesinin HSA proteinine bağlanmasında elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğunu göstermektedir. Gibbs serbest enerji değişim değerinin negatif olması bağlanma işleminin kendiliğinden gerçekleştiğini ifade etmektedir (Bkz. Çizelge 4.7).

Çizelge 4.8'den HSA-CF sistemi için ΔH değerinin $-22,60 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ΔS değerinin $-10,75 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olduğu görülmektedir. Bu durum, CF maddesinin HSA proteinine bağlanmasında hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetlerinin etkin olduğunu göstermektedir. Ayrıca; Gibbs serbest enerji değişim değerinin negatif olması, bağlanma işleminin kendiliğinden gerçekleştiğini belirtmektedir (Bkz. Çizelge 4.8).

HSA-DQ sistemi için ΔH değeri $-13,25 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ΔS değeri $23,03 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Bkz. Çizelge 4.9). Bu durum, DQ maddesinin HSA proteinine bağlanmasında elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğunu ifade etmektedir. Gibbs serbest enerji değişim değerinin negatif olması bağlanma işleminin kendiliğinden gerçekleştiğini göstermektedir.

Benzer sonuçlar Wang vd (2007) tarafından yapılan bir çalışmada da elde edilmiştir. Çalışmada, paraquat (PQ) maddesi ile sığır hemoglobin (BHb) proteini arasındaki etkileşimler incelenmiş ve ΔH değeri $-4,676 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ΔS değeri $70,019$

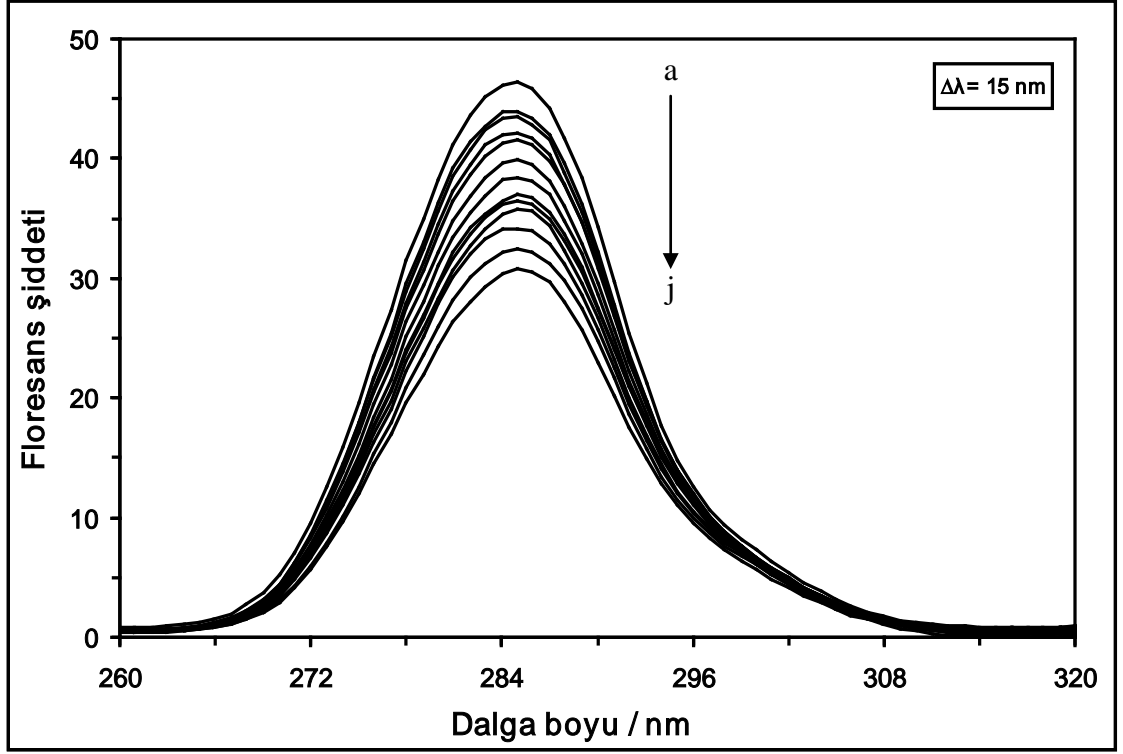
J.mol⁻¹.K⁻¹ olarak bulunmuştur. Gibbs serbest enerji değışim değeri hesaplamalar sonunda negatif çıkmıştır. Bu sonuçlardan, BHb-PQ kompleksinin oluşumunda hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğu sonucuna varılmıştır (Wang vd 2007). Zhang vd (2007), paraquat maddesinin HSA proteini ile olan etkileşimini incelemiştir. Etkileşime ait ΔH değeri -6,710 kJ.mol⁻¹ ve ΔS değeri 64,849 J.mol⁻¹.K⁻¹ olarak bulunmuştur. Gibbs serbest enerji değışim değeri negatif işaretli olarak hesaplanmıştır. Bu durum, HSA-PQ kompleksinin oluşumunda hidrofobik etkileşimlerin ve elektrostatik kuvvetlerinin etkin olduğunu göstermiştir (Zhang vd 2007). Ni vd (2008) izoprokarb maddesi ile BSA proteininin etkileşimini incelemiştir. Çalışmada, etkileşime ait termodinamik parametrelerden ΔH değeri -102,3 kJ.mol⁻¹, ΔS değeri -248 J.mol⁻¹.K⁻¹ ve Gibbs serbest enerji değışim değeri negatif olarak bulunmuştur. Bu durum, izoprokarb maddesinin BSA proteinine bağlanmasında hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetlerinin etkin olduğunu belirtmiştir (Ni vd 2008).

4.4. Diklorprop, Karbofuran, Amitrol ve Dikuat Pestisitleri ile HSA Proteini Arasındaki Etkileşimlerin Senkronize Floresans Spektroskopisi ile İncelenmesi

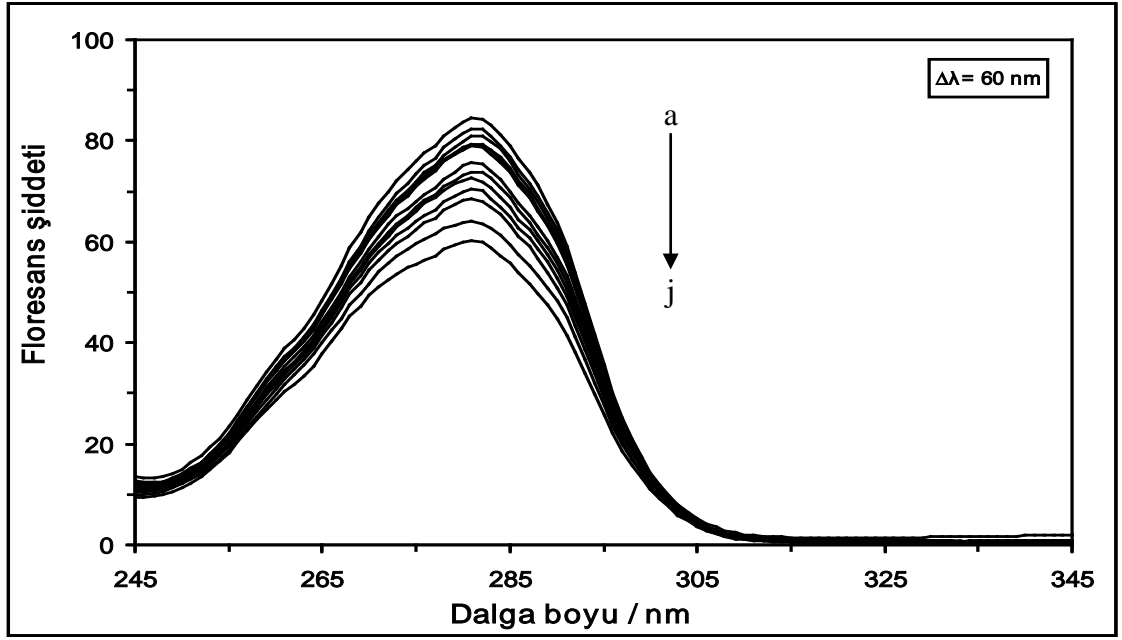
HSA proteininde bulunan tirozin ve triptofan amino asitlerinin kalıntılarına ait karakteristik bilgilerin elde edilmesinde senkronize floresans spektroskopisinden faydalanılmaktadır. Senkronize floresans spektroskopisinden elde edilen bilgilerden HSA proteininin yapısında meydana gelen konformasyonel değışiklikler anlaşılabilir. Çalışmada $\Delta\lambda$ değeri, uyarma ve emisyon dalga boyları arasındaki farkı temsil etmektedir. $\Delta\lambda$ değeri, 15 nm dalga boyuna ayarlandığında tirozin amino asiti ve 60 nm dalga boyuna ayarlandığında ise triptofan amino asiti mikroçevresi hakkında bilgi sağlanmaktadır.

Tüm HSA-pestisit sistemlerine ait senkronize floresans ölçümleri 310,15 K'de, fizyolojik pH değerinde, $\Delta\lambda$ değerinin 15 nm ve 60 nm olarak ayarlanması ile kaydedilmiştir. HSA-DCP sistemi için kaydedilen senkronize floresans spektrumları sırası ile Şekil 4.77 ve Şekil 4.78'de, HSA-CF sistemi kaydedilen senkronize floresans spektrumları sırası ile Şekil 4.79 ve Şekil 4.80'de, HSA-AR sistemi için kaydedilen

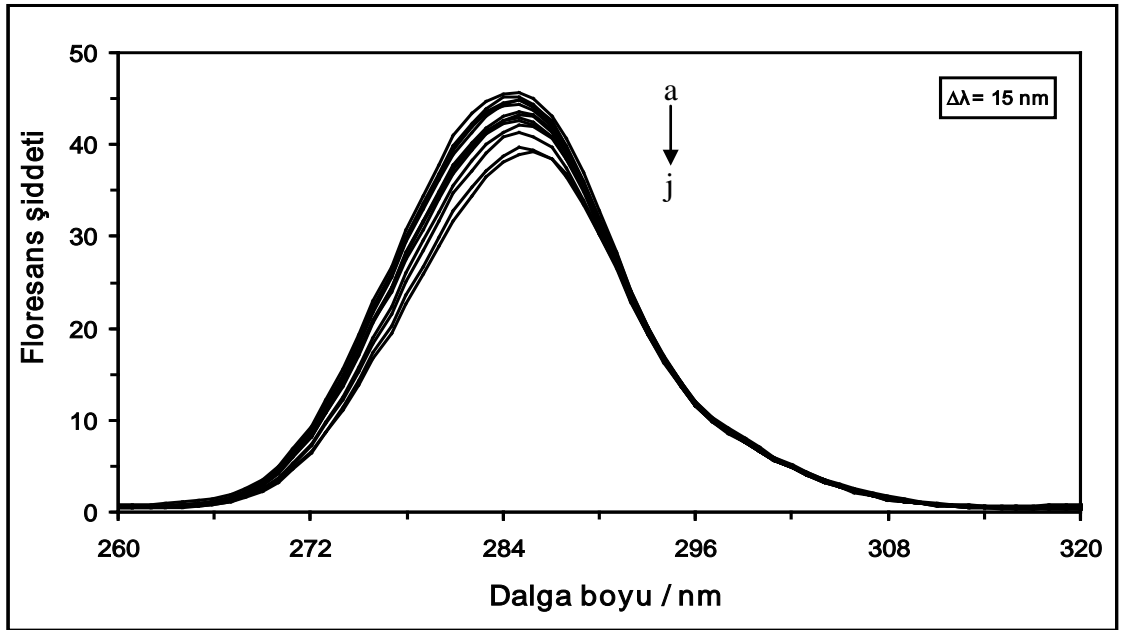
senkronize floresans spektrumları sırası ile Şekil 4.81 ve Şekil 4.82’de ve HSA-DQ sistemi için kaydedilen senkronize floresans spektrumları sırası ile Şekil 4.83 ve Şekil 4.84’te gösterilmektedir.



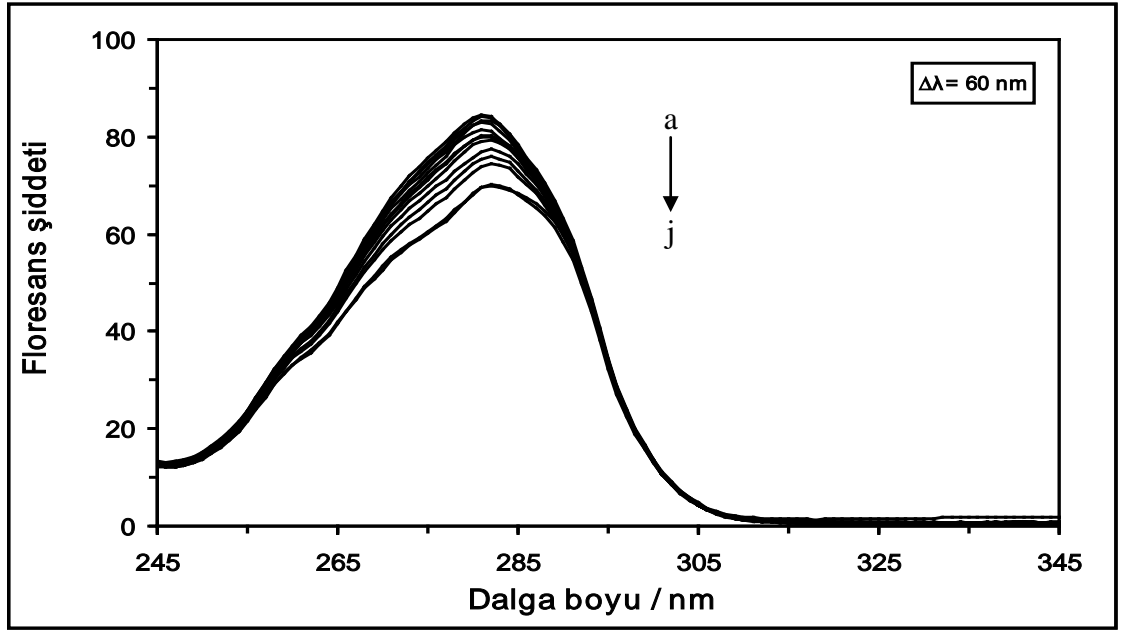
Şekil 4.77. 310,15 K’de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



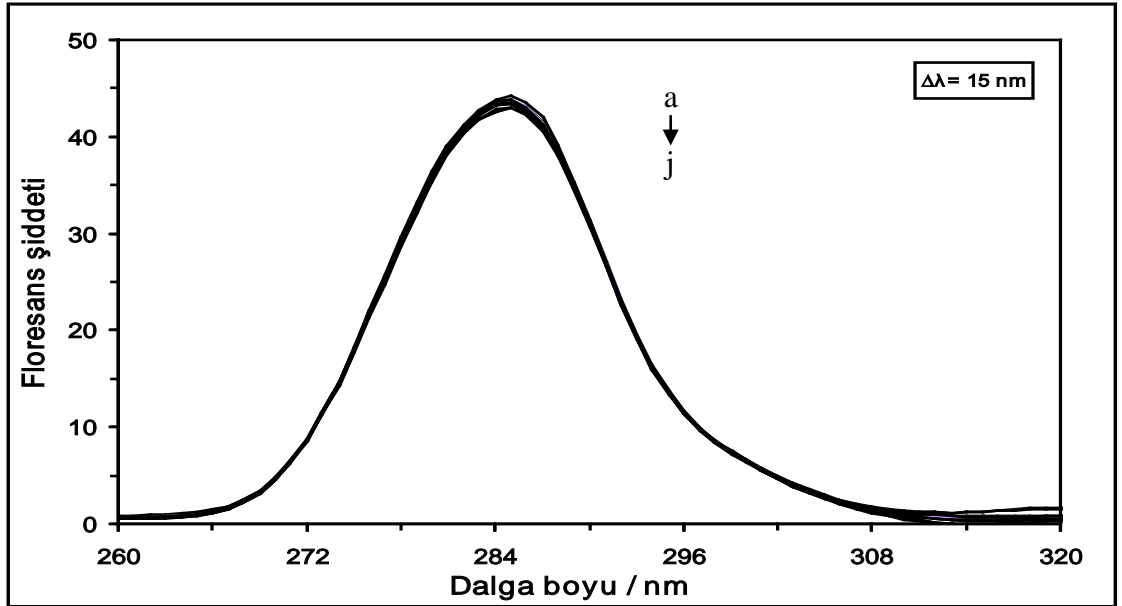
Şekil 4.78. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DCP varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [DCP] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



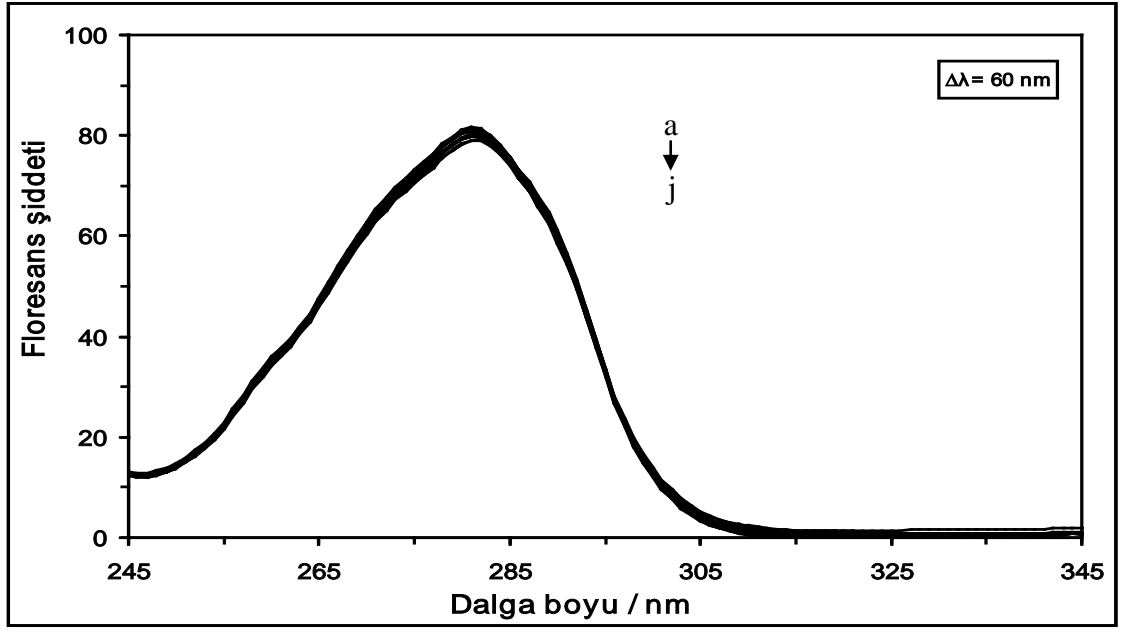
Şekil 4.79. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



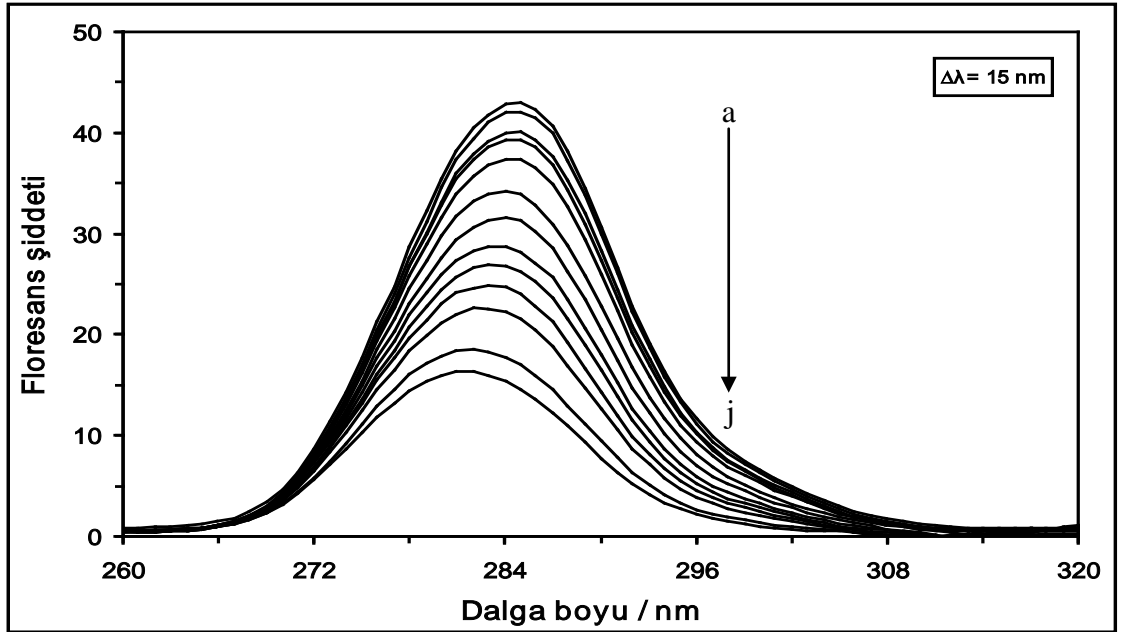
Şekil 4.80. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda CF varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [CF] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



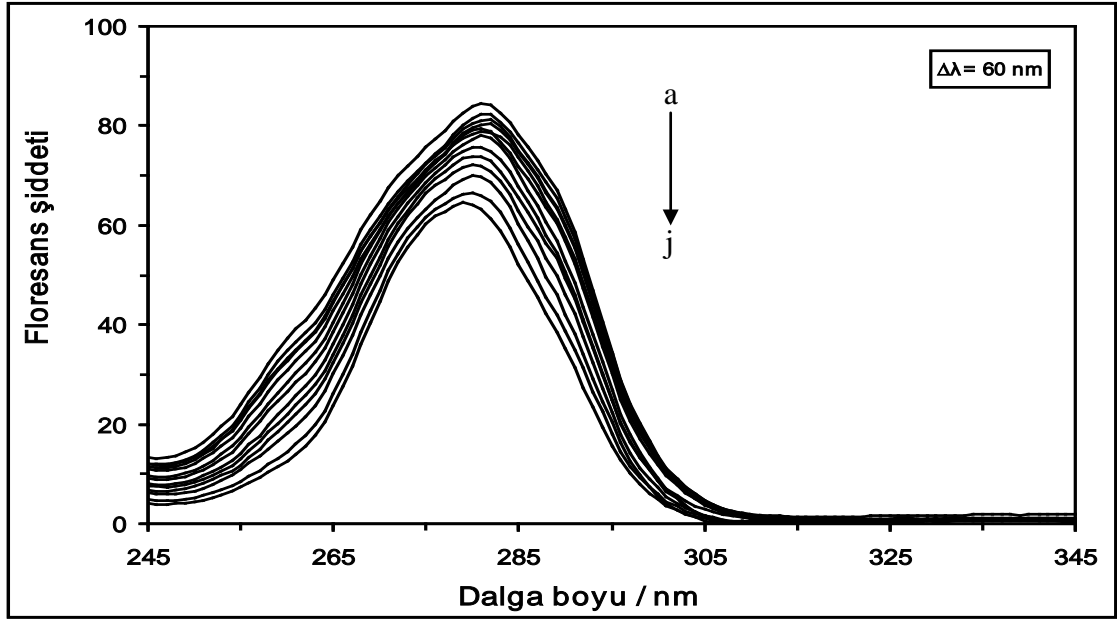
Şekil 4.81. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.82. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda AR varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [AR] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.83. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 15$ nm. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (i) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M



Şekil 4.84. 310,15 K'de farklı konsantrasyonlarda DQ varlığında 2×10^{-6} M HSA çözeltisinin senkronize floresans spektrumu. $\Delta\lambda = 60$ nm. Çözeltideki [DQ] = (a) 0 M, (b) 1×10^{-6} M, (c) 2×10^{-6} M, (ç) 4×10^{-6} M, (d) 6×10^{-6} M, (e) 10×10^{-6} M, (f) 14×10^{-6} M, (g) 18×10^{-6} M, (ğ) 22×10^{-6} M, (h) 26×10^{-6} M, (ı) 30×10^{-6} M, (i) 40×10^{-6} M ve (j) 50×10^{-6} M

HSA-DCP sisteminin senkronize floresans ölçümlerine ait spektrumların her ikisinde de artan DCP konsantrasyonu ile saf HSA çözeltisinin floresans şiddetinde bir azalma meydana gelmiştir. $\Delta\lambda$ değerinin hem 15 nm'ye (Bkz. Şekil 4.77) hem de 60 nm'ye (Bkz. Şekil 4.78) ayarlanması sonucu artan DCP konsantrasyonu ile birlikte proteinin maksimum emisyon dalga boyunda herhangi bir kayma gözlenmemektedir. Bu durum, DCP ile etkileşim sonrasında HSA proteinindeki tirozin ve triptofan kalıntılarının mikroçevrelerinde herhangi bir değişimin olmadığını göstermektedir.

HSA-CF sisteminin senkronize floresans ölçümlerine ait spektrumlar incelendiğinde, artan CF konsantrasyonu ile saf HSA çözeltisinin floresans şiddetinin azaldığı görülmektedir. Şekil 4.79 ve Şekil 4.80'e bakıldığında, $\Delta\lambda=15$ nm değerine ayarlandığında proteinin maksimum emisyon dalga boyu 285 nm'den 286 nm'ye (kırmızıya) doğru ve $\Delta\lambda=60$ nm değerine ayarlandığında proteinin maksimum emisyon dalga boyu 282 nm'den 284 nm'ye (kırmızıya) doğru bir kayma söz konusudur. Bu durum, CF maddesinin HSA'ya bağlanması ile proteinin tirozin ve triptofan amino asiti kalıntılarının çevresinde polarlığın az miktarda arttığı anlamını taşımaktadır.

Şekil 4.81 ve Şekil 4.82 incelendiğinde, HSA-AR sisteminin senkronize floresans ölçümlerinde artan AR konsantrasyonu ile birlikte saf HSA çözeltisinin floresans şiddetinde hem $\Delta\lambda=15$ nm hem de $\Delta\lambda=60$ nm değerlerinde herhangi bir değişim görülmemektedir. Bu sonuç, proteinin tirozin ve triptofan amino asit kalıntı mikroçevrelerinde herhangi bir değişim olmadığı anlamını taşımaktadır ve ayrıca, HSA proteini ile AR maddesi arasında herhangi bir etkileşimin gerçekleşmediği sonucunu da desteklemektedir.

Şekil 4.83 ve Şekil 4.84 incelendiğinde, HSA-DQ sisteminin senkronize floresans ölçümlerinde artan DQ konsantrasyonu ile saf HSA çözeltisinin floresans şiddetinin, $\Delta\lambda=15$ nm değerine ayarlandığında 284 nm'den 282 nm'ye (maviye) doğru, $\Delta\lambda=60$ nm değerine ayarlandığında da 282 nm'den 279 nm'ye (maviye) doğru azaldığı görülmektedir. Buradan, DQ'nun HSA ile etkileşiminden sonra proteinin tirozin ve triptofan amino asit kalıntı mikroçevrelerinde polarlığın azaldığı sonucuna ulaşılabılır.

Saquib vd (2011) tarafından, HSA proteinindeki tirozin ve triptofan amino asiti kalıntılarının mikroçevrelerine forat maddesinin etkisini araştırmak için senkronize floresans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Araştırmadan elde edilen verilere göre, HSA proteininin floresans şiddeti hem $\Delta\lambda=15$ nm hem de $\Delta\lambda=60$ nm değerlerinde azalma göstermiştir. $\Delta\lambda=15$ nm'de herhangi bir kayma gözlenmemesine rağmen $\Delta\lambda=60$ nm'de kırmızıya doğru bir kayma gözlenmiştir. Bu durumdan, etkileşimden sonra HSA proteininin tirozin amino asiti kalıntısının mikroçevresinde herhangi bir değişikliğin meydana gelmediği ve triptofan amino asiti kalıntısının mikroçevresinde ise polarlığın arttığı sonucuna varılmıştır (Saquib vd 2011). Zhang vd (2007), HSA proteinindeki tirozin ve triptofan amino asit kalıntılarının mikroçevrelerine paraquat maddesinin etkisini incelemiştir. Elde edilen verilere göre HSA proteininin floresans şiddeti hem $\Delta\lambda=15$ nm hem de $\Delta\lambda=60$ nm değerlerinde bir azalma göstermiştir. Aynı zamanda, $\Delta\lambda=60$ nm değerinde kırmızıya doğru bir kayma gözlenmiştir (Zhang vd 2007).

5. SONUÇ

Bu çalışmada, floresans spektroskopisi tekniği kullanılarak HSA-DCP, HSA-CF, HSA-AR ve HSA-DQ sistemlerindeki etkileşimler 288,15 K, 298,15 K, 310,15 K ve 318,15 K sıcaklıklarda incelenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

- Floresans spektroskopisi ölçümlerinde 2×10^{-6} M'lık saf HSA çözeltisinin 280 nm dalga boyunda uyarılması sonucunda, proteinin maksimum emisyon dalga boyu 335 nm'de meydana gelmektedir. Ayrıca, çözelti sıcaklığının 288,15 K'den 318,15 K'e artırılması ile proteinin maksimum emisyon dalga boyu değerinde herhangi bir kayma gözlenmezken, floresans şiddetinde bir azalma meydana gelmektedir.
- Floresans spektrumları incelendiğinde, DCP maddesinin konsantrasyonundaki artış ile birlikte HSA proteininin floresans spektrumunda sönümlenme gerçekleşmektedir. Bu durum, HSA proteini ile DCP maddesi arasında bir etkileşimin gerçekleştiğini göstermektedir.
- HSA-CF sisteminde, çözeltideki artan CF konsantrasyonu HSA proteininin floresans şiddetinde bir azalmanın gerçekleşmesine yol açmaktadır.
- Farklı konsantrasyonlarda AR maddesi varlığında 2×10^{-6} M'lık HSA protein çözeltisinin floresans spektrumunda herhangi bir kayma veya proteinin floresans şiddetinde herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Bu durum, HSA proteini ile AR maddesi arasında herhangi bir etkileşimin gerçekleşmediğini belirtmektedir.
- HSA-DQ sistemine ait floresans ölçümleri, HSA proteini ile DQ maddesi arasında bir etkileşimin gerçekleştiğini belirtmektedir.
- Etkileşim gösteren tüm HSA-pestisit sistemlerine ait Stern-Volmer sönümlenme sabiti (K_{SV}) değerleri artan sıcaklıkla birlikte bir azalma göstermektedir. Bu durum, tüm sistemler için floresans sönümlenme mekanizmasının statik sönümlenme yolu ile gerçekleştiğini işaret etmektedir.

- Çözelti sıcaklığının 288,15 K'den 318,15 K'e artırılması ile bağlanma sabiti değerinin HSA-DCP sistemi için $7,48 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'den $5,39 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'e, HSA-CF sistemi için $3,38 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'den $1,29 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'e ve HSA-DQ sistemi için $4,04 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'den $2,36 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 'e düştüğü görülmüştür. Ayrıca, HSA-DCP, HSA-CF ve HSA-DQ sistemleri için protein üzerinde yaklaşık 1 adet pestisit bağlanma yerinin olduğu bulunmuştur.
- HSA-DCP sistemi için ΔH değeri $-7,48 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ΔS değeri $48,22 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu durum, DCP maddesinin HSA proteinine bağlanmasında elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğunu göstermektedir. Gibbs serbest enerji değişim değerinin negatif olması bağlanma işleminin kendiliğinden gerçekleştiğini göstermektedir.
- HSA-CF sistemi için ΔH değeri $-22,60 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ΔS değeri $-10,75 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak elde edilmiştir. Bu durum, CF maddesinin HSA proteinine bağlanmasında hidrojen bağları ve van der Waals kuvvetlerinin etkin olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Gibbs serbest enerji değişim değerinin negatif olması, bağlanma işleminin kendiliğinden gerçekleştiğini belirtmektedir.
- HSA-DQ sistemi için ΔH değeri $-13,25 \text{ kJ.mol}^{-1}$ ve ΔS değeri $23,03 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu durum, DQ maddesinin HSA proteinine bağlanmasında elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğunu göstermektedir. Negatif Gibbs serbest enerji değişim değerinin elde edilmiş olması, bağlanma prosesinin kendiliğinden gerçekleştiğini göstermektedir.
- Senkronize floresans ölçümleri; HSA proteininin DCP maddesi ile etkileşiminden sonra, proteinde yer alan triptofan ve tirozin amino asit kalıntılarının mikroçevrelerinde herhangi bir değişimin gerçekleşmediği sonucuna ulaştırmıştır.
- HSA-CF sisteminin senkronize floresans ölçümlerine ait spektrumlar incelendiğinde artan CF konsantrasyonu ile birlikte saf HSA çözeltisinin floresans şiddeti azalmıştır. Hem $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$ hem de $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$ değerleri için proteinin

maksimum emisyon dalga boyunda az da olsa kırmızıya doğru bir kayma gözlenmiştir. Bu durum, etkileşimden sonra HSA proteininde yer alan hem triptofan hem de tirozin amino asit kalıntılarının mikro çevrelerinde polarlığın arttığını göstermektedir.

- HSA-AR sisteminde, artan AR konsantrasyonuyla birlikte proteinin senkronize floresans spektrumlarında herhangi bir değişiklik meydana gelmemiştir. Bu durum, HSA proteini ile AR maddesi arasında herhangi bir etkileşimin gerçekleşmediği sonucunu desteklemektedir.

- HSA-DQ sisteminin senkronize floresans ölçümlerinde, artan DQ konsantrasyonu ile birlikte saf HSA çözeltisinin floresans şiddeti değerlerinde hem $\Delta\lambda=15$ nm'de hem de $\Delta\lambda=60$ nm'de sönemlenme meydana gelmiştir. Ayrıca, hem $\Delta\lambda=15$ nm hem de $\Delta\lambda=60$ nm ölçümlerinde, artan DQ konsantrasyonuyla birlikte HSA proteininin maksimum emisyon boyunda maviye doğru bir kayma gözlenmektedir. Bu sonuçlara göre; HSA proteinine DQ'nun bağlanması, proteinin tirozin ve triptofan amino asitlerinin mikroçevrelerinde polarlığın azalmasına yol açmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- ALBANI, J.R. 2007. Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy. Blackwell Publishing, UK, p. 255.
- BRADBURY, S. 2007. Reregistration Eligibility Decision for Dichlorprop-p (2,4-DP-p), United States Environmental Protection Agency, USA.
- BI, S., DING, L., TIAN, Y., SONG, D., ZHOU, X., LIU, X. and ZHANG, H. 2004. Investigation of the interaction between flavonoids and human serum albumin. *J. Mol. Struct.*, 703 (1-3): 37-45.
- BUSS, D.S. and CALLAGHAN, A. 2008. Interaction of pesticides with p-glycoprotein and other ABC proteins: A survey of the possible importance to insecticide, herbicide and fungicide resistance. *Pestic. Biochem. Phys.*, 90 (3): 141-153.
- COZZONE, A.J. 2010. Proteins: Fundamental chemical properties. In: Encyclopedia of Life Sciences, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- CUI, F., ZHANG, Q., YAO, X., LUO, H., YANG, Y., QIN, L., QU, G. and LU, Y. 2008. The investigation of the interaction between 5-iodouracil and human serum albumin by spectroscopic and modeling methods and determination of protein by synchronous fluorescence technique. *Pestic. Biochem. Phys.*, 90 (2): 126-134.
- CUI, F., YAN, Y., ZHANG, Q., YAO, X., QU, G. and LU, Y. 2009. Characterization of the interaction between 8-bromoadenosine with human serum albumin and its analytical application. *Spectrochim. Acta A*, 74 (4): 964-971.
- DIAZ, T. G., MERAS, I.D. and FRANCO, M.F.A. 2002. Stopped flow kinetic-spectrophotometric determination of diquat in waters. *Water Res.*, 36 (3): 783-787.
- DING, F., ZHAO, G., CHEN, S., LIU, F., SUN, Y. and ZHANG, L. 2009. Chloramphenicol binding to human serum albumin: Determination of binding constants and binding sites by steady-state fluorescence. *J. Mol. Struct.*, 929 (1-3): 159-166.
- DING, F., LIU, W., ZHANG, X., ZHANG, L., SUN, Y., 2010a. Fluorescence and circular dichroism studies of conjugates between metsulfuron-methyl and human serum albumin. *Colloid Surf. B*, 76 (2): 441-448.
- DING, F., LIU, W., LI, Y., ZHANG, L. and SUN, Y. 2010b. Determining the binding affinity and binding site of bensulfuron-methyl to human serum albumin by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence. *J. Lumin.*, 130 (11): 2013-2021.

- DING, F., LIU, W., ZHANG, X., WU, L.J., ZHANG, L. and SUN, Y. 2010c. Identification of pyrazosulfuron-ethyl binding affinity and binding site subdomain IIA in human serum albumin by spectroscopic methods. *Spectrochim. Acta A*, 75 (3): 1088-1094.
- ECKERSALL, P.D. 2008. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In: J.J. Kaneko, J. W. Harvey and L. Bruss (Editors), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Elsevier, pp. 117-155, UK.
- FAN, A.M. and ALEXEEFF, G.V. 2000. Public health goal for carbofuran. In: *Drinking Water*, Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency.
- FARRUGIA, A. 2010. Albumin Usage in Clinical Medicine: Tradition or Therapeutic? *Transfus. Med. Rev.*, 24 (1): 53-63.
- FANALI, G., MASI, A.D., TREZZA, V., MARINO, M., FASANO, M. and ASCENZI, P. 2012. Human serum albumin: From bench to bedside. *Mol. Aspects Med.*, 33 (3): 209-290.
- FUSSELL, K.C., UDASIN, R.G., GRAY, J.P., MISHIN, V., SMITH, P.J.S., HECK, D.E. and LASKIN, J.D. 2011. Redox cycling and increased oxygen utilization contribute to diquat-induced oxidative stress and cytotoxicity in Chinese hamster ovary cells overexpressing NADPH-cytochrome P450 reductase. *Free Radic. Bio. Med.*, 50 (7): 874-882.
- GERALDINE, S.M.J. and TAKEUCHI, S. 2011. Understanding tools and techniques in protein structure prediction. In: N. S. Yang (Editor), *Systems and Computational Biology-Bioinformatics and Computational Modeling*, In Tech Publisher, pp. 187-212, Croatia.
- GÜLER, Ç. ve ÇOBANOĞLU, Z. 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, İlköz Yayınevi, Ankara, 173 s.
- HAN, X.L., MEI, P., LIU, Y., XIAO, Q., JIANG, F.L. and LI, R. 2009. Binding interaction of quinclorac with bovine serum albumin: A biophysical study. *Spectrochim. Acta A*, 74 (3): 781-787.
- HAN, X.L., TIAN, F.F., GE, Y.S., JIANG, F.L., LAI, L., LI, D.W., YU, Q.L., WANG, J., LIN, C. and LIU, Y. 2012. Spectroscopic, structural and thermodynamic properties of chlorpyrifos bound to serum albumin: A comparative study between BSA and HSA. *J. Photoch. Photobio. B*, 109: 1-11.
- JAIN, A., BLUM, C. and SUBRAMANIAM, V. 2009. Fluorescence lifetime spectroscopy and imaging of visible fluorescent proteins. In: *Advances in Biomedical Engineering* Elsevier, pp. 145-174, London.

- JANG, J., LIU, H., CHEN, W. and ZOU, G. 2009. Binding of mitomycin C to blood proteins: A spectroscopic analysis and molecular docking. *J. Mol. Struct.*, 928 (1-3): 72-77.
- JOUNG, J.K., RAMM, E.I. and PABO, C.O. 2000. A bacterial two-hybrid selection system for studying protein-DNA and protein-protein interaction. *P. Natl. Acad. Sci. Usa.*, 97 (13): 7382-7387.
- KRISHNAMOORTHY, G. 2003. Fluorescence spectroscopy in molecular description of biological processes. *Indian J. Biochem. Bio.*, 40 (3): 147-159.
- LAKOWICZ, J.R. 1999. Principles of Fluorescence Spectroscopy, 2nd edition, Kluwer/Plenum, New York, pp. 367-391.
- LAKOWICZ, J.R. 2006. Principle of Fluorescence Spectroscopy, 3rd edition, Springer, Maryland, pp. 958.
- LI, W., ZHA, J., SPEAR, P.A., LI, Z., YANG, L. and WANG, Z. 2009a. Changes of thyroid hormone levels and related gene expression in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) during 3-amino-1,2,4-triazole exposure and recovery. *Aquat. Toxicol.*, 92 (1): 50-57.
- LI, J., LIU, X., REN, C., LI, J., SHENG, F. and HU, Z., 2009b. In vitro study on the interaction between thiophanate methyl and human serum albumin. *J. Photoch. Photobio. B*, 94 (3): 158-163.
- LI, Y., YAO, X., JIN, J., CHEN, X. and HU, Z. 2007. Interaction of rhein with human serum albumin investigation by optical spectroscopic technique and modeling studies. *BBA-Proteins Proteom.*, 1774 (1): 51-58.
- LU, L.A., MA, Y.S., KUMAR, M. and LIN, J.G. 2011. Photo-Fenton pretreatment of carbofuran - Analyses via experimental design, detoxification and biodegradability enhancement. *Sep. Purif. Technol.*, 81 (7): 325-331.
- MAITI, T.K., GHOSH, K.S. DEBNATH, J. and DASGUPTA, S. 2006. Binding of all-trans retinoic acid to human serum albumin: Fluorescence, FT-IR and circular dichroism studies. *Int. J. Biol. Macromol.*, 38 (3-5): 197-202.
- McKEE. T, and McKEE J. 2011. Biochemistry: Molecular Basis of Life, Oxford University Publisher, pp. 108-160, London.
- MERT, B.D., MERT, M.E., KARDAŞ, G. and YAZICI, B. 2012. Experimental and theoretical studies on electrochemical synthesis of poly(3-amino-1,2,4-triazole). *Appl. Surf. Sci.*, 258 (24): 9668-9674.
- NI, Y., LIU, G. and KOKOT, S. 2008. Fluorescence spectrometric study on the interactions of isoprocarb and sodium 2-isopropylphenate with bovine serum albumin. *Talanta*, 76 (3): 513-521.

- NI, Y., ZHANG, F. and KOKOT, S. 2012. Enantioselective binding interaction of the metolachlor pesticide enantiomers with bovine serum albumin - A spectroscopic analysis study. *Spectrochim. Acta A*, 97 (1): 753-761.
- PINCUS, M.R. 2012. Physiological structure and function of proteins. In: Cell Physiology Source Book: Essentials of Membrane Biophysics, 4th edition, Elsevier, pp. 19-47, London.
- PLANGKLANG, P. and REUNGSANG, A. 2009. Bioaugmentation of carbofuran by Burkholderia cepacia PCL3 in a bioslurry phase sequencing batch reactor. *Process Biochem.*, 45 (2): 230-238.
- ROSS, P.D. and SUBRAMANIAN, S. 1981. Thermodynamics of protein association reactions: Forces contributing to stability. *Biochemistry*, 20 (11): 3096-3102.
- SAQUIB, Q., AL-KHEDHAIRY, A.A., SIDDIQUI M.A., SINGHA ROY, A., DASGUPTA, S. and MUSARRAT, J. 2011. Preferential binding of insecticide phorate with sub-domain IIA of human serum albumin induces protein damage and its toxicological significance. *Food Chem. Toxicol.*, 49 (8): 1787-1795.
- SCHERMANN, J.R. 2008. Spectroscopy and Modeling of Biomolecular Building Blocks, 1st edition, Elsevier, Amsterdam, pp. 251-296.
- SHERIF, E.M, ERASMUS, R.M. and COMINS, J.D. 2007. Effects of 3-amino-1,2,4-triazole on the inhibition of copper corrosion in acidic chloride solutions. *J. Colloid Interf. Sci.*, 311 (1): 144-151.
- TANIGUCHI, N. 1999. Amino acids and proteins. In: J. Baynes, M.H. Dominiczak (Editor), Medical Biochemistry, Mosby Publisher, pp. 5-21, London.
- TIMASEFF, S.N. 1972. Thermodynamics of protein interactions. In: H. Peeters (Editor), Proteins of Biological Fluids, Pergamon Press, pp. 511-519, Oxford.
- WAGNER, I. and MUSSO, H. 1983. New naturally occurring amino acids. *Angew Chem. Int. Edit.*, 22 (11): 816-828.
- WANG, T., XIANG, B., WANG, Y., CHEN C., DONG Y., FANG, H. and WANG M. 2008. Spectroscopic investigation on the binding of bioactive pyridazinone derivative to human serum albumin and molecular modeling. *Colloid Surface B*, 65 (1): 113-119.
- WANG, Y., ZHANG, H. and ZHOU, Q. 2009. Investigation of the interaction between pentachlorophenol and human serum albumin using spectral methods. *J. Mol. Struct.*, 932 (1-3): 31-37.

WANG, Y.Q., ZHANG, H.M., ZHANG, G.C., LIU, S.X., ZHOU, Q.H., FEI, Z.H. and LIU, Z.T. 2007. Studies of the interaction between paraquat and bovine hemoglobin. *Int. J. Biol. Macromol.*, 41 (3): 243-250.

www.epa.gov

www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

XU, C., ZHANG, A and LIU, W. 2007. Binding of phenthoate to bovine serum albumin and reduced inhibition on acetylcholinesterase. *Pestic. Biochem. Phys.*, 88 (2): 176-180.

ZHANG, G., WANG, Y., ZHANG, H., TABG, S., TAO, W. 2007. Human serum albumin interaction with paraquat studied using spectroscopic methods. *Pestic. Biochem. Phys.*, 87 (1): 23-29.

ZHANG, H., MEI, P., YANG, X. 2009. Optical, structural and thermodynamic properties of the interaction between tradimefon and serum albumin. *Spectrochim. Acta A*, 72 (3): 621-626.

ÖZGEÇMİŞ

İnanç SOYLU 1985 yılında Ankara’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini TED Ankara Koleji’nde tamamladı. 2002 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde almaya başladığı lisans eğitimini, 2008 yılında bitirdi. 2010 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda başladığı Yüksek Lisans eğitimine halen devam etmektedir. Aynı zamanda, 2009 yılından itibaren proje ve bilişim uzmanı olarak görev aldığı APGEM (Akdeniz Üniversitesi Proje Geliştirme Araştırma ve Uygulama Merkezi) ile 2010 yılından itibaren bilgi işlem uzmanı olarak çalıştığı AKUZEM (Akdeniz Üniversitesi Uzaktan Eğitim Araştırma ve Uygulama Merkezi)’deki görevlerini sürdürmektedir.