

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARBAZOL KÖPRÜLÜ İNDOL BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ VE
SENSÖR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

SÜLEYMAN EREN KABİL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE
2023

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KARBAZOL KÖPRÜLÜ İNDOL
BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ VE SENSÖR
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

SÜLEYMAN EREN KABİL
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. BÜNYEMİN ÇOŞUT

GEBZE
2023

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF SENSOR
PROPERTIES OF CARBAZOL LINKED INDOLE
COMPOUNDS**

SÜLEYMAN EREN KABİL

**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

**THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. BÜNYEMİN ÇOŞUT**

GEBZE

2023



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 06/07/2023 tarih ve 2023/37 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 19/07/2023 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Süleyman Eren KABİL'in tez çalışması Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : PROF. DR. BÜNYEMİN ÇOŞUT

ÜYE

: PROF. DR. ESRA TANRIVERDİ EÇİK

ÜYE

: DOÇ. DR. İBRAHİM FAZIL ŞENGÜL

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Karbazol, benzen halkalarının pirol çekirdeğinin her iki yanına kaynaşmasıyla oluşan azot grubuna sahip önemli bir heterosiklik moleküldür. Karbazoller, foto-elektronik ve boyar malzeme olarak kullanılmalarının yanı sıra supramoleküler kimya ve ilaç kimyası alanında yapılan çalışmalarda kullanılan önemli bir organik bileşiktir. Ayrıca karbazol temelli bileşiklerin kimyasal sensör çalışmaları da oldukça dikkat çekicidir.

Azot grubu içeren bir diğer heterosiklik bileşik sınıfı ise pirol ve benzen halkasından oluşan indol molekülüdür. İndol temelli bileşikler sahip oldukları floresans karakterlerinden dolayı kimyasal sensör olabilme potansiyeline sahiptir. Literatürde, farklı indol türevleri sensör özellikleri incelenmek üzere tasarlanıp sentezlenmiş olmasına rağmen, bu sistemlerin hedef türlere karşı seçiciliğinin düşük ve tekrarlanabilirliğinin sınırlı olması gibi dezavantajları mevcuttur. İndol grupları içeren çok bileşenli tasarımlar ile tekrarlanabilir ve yüksek seçiciliğe sahip sensör geliştirme çalışmaları oldukça dikkat çekicidir.

Tez kapsamında karbozol-indol temelli yeni floresans sensörlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, ilk olarak Vilsmeier-Haack formilasyonu yöntemi kullanılarak karbazol bileşiğinin aktif C3 ve C6 pozisyonlarına aldehit fonksiyonel grupları eklenip elde edilen karbazol-3-karbaldehit ve karbazol-3,6-dikarbaldehit bileşiklerinin 3-metil indol ile reaksiyonundan karbazol köprülü ikili ve dördümlü indol türevleri sentezlenmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında ise karbozol-indol temelli yeni bileşiklerin fotofiziksel ve sensör özellikleri UV-Vis ve floresans spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Bileşiklerin 14 farklı metal iyonuna (Cu^{+2} , Fe^{+3} , Hg^{+2} , Ni^{+2} , Ca^{+2} , Na^{+1} , Cs^{+1} , Li^{+1} , Mn^{+2} , Ag^{+1} , Ba^{+2} , Al^{+3} , Sr^{+2} , K^{+1}) karşı seçicilikleri incelenmiştir. Karbozol-indol temelli bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarına karşı seçici oldukları gözlemlenmiştir. Bu tez çalışması, sentezlenen yeni tür karbazol köprülü indol bileşiklerinin floresans sensörler olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduklarını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Karbazol, İndol, Floresans sensör, Demir, Bakır.

SUMMARY

Carbazole is an important heterocyclic molecule with nitrogen group formed by fusing of benzene rings on both sides of pyrrole nucleus. Carbazoles are an important organic compound used in supramolecular and pharmaceutical chemistry, as well as being used as photo-electronic and dyestuffs. Chemical sensor studies of carbazole-based compounds are also quite remarkable.

Another class of heterocyclic compounds containing nitrogen group is indole molecule consisting of pyrrole and benzene ring. Indole-based compounds have potential to be chemical sensors due to their fluorescence characteristics. Although various indole derivatives have been designed and synthesized in the literature for investigation of sensor properties, these systems still suffer from drawbacks such as low selectivity and limited repeatability. With multi-component designs containing indole groups, reproducible and highly selective sensor studies are quite remarkable.

In this thesis, it is aimed to develop new fluorescence sensors based on carbozol-indole. Firstly, using Vilsmeier-Haack formylation method, aldehyde functional groups were added to active C3 and C6 positions of carbazole compound, resulting in carbazole-3-carbaldehyde and carbazole-3,6-dicarbaldehyde compounds. These compounds were reacted with 3-methyl indole to synthesize carbazole-linked binary and quadruple indole derivatives. In the second part, photophysical and sensor properties of new carbozol-indole-based compounds were determined by UV-Vis and fluorescence spectrophotometer. The selectivities of the compounds against 14 different metal ions (Cu^{+2} , Fe^{+3} , Hg^{+2} , Ni^{+2} , Ca^{+2} , Na^{+1} , Cs^{+1} , Li^{+1} , Mn^{+2} , Ag^{+1} , Ba^{+2} , Al^{+3} , Sr^{+2} , K^{+1}) were investigated. It has been observed that carbozol-indole based compounds are selective towards Fe^{+3} and Cu^{+2} ions. This thesis study shows that the newly synthesized carbazole linked indole compounds have the potential to be used as fluorescence sensors.

Key Words: Carbazole, Indole, Fluorescence sensor, Iron, Copper.

TEŞEKKÜR

Başta yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen, engin bilgisi ve doğru yönlendirmeleriyle bana rehberlik eden değerli danışman hocam Prof. Dr. Bünyemin ÇOŞUT'a en içten minnet ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen sayın Doç. Dr. İbrahim Fazıl ŞENGÜL hocama teşekkürlerimi sunarım.

Bütün çalışmam boyunca yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Doç. Dr. Süreyya Oğuz TÜMAY, Arş. Gör. Burcu TOPALOĞLU AKSOY, Emrah ÖZCAN' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde kuşkusuz en büyük paya sahip olan çok değerli annem Gönül KABİL' e, babam Ahmet KABİL' e ve yükseköğrenim hayatım boyunca her zaman yanımda olan, beraber geçirebileceğimiz zamanımızın çoğunu yüksek lisans eğitimime ayırmama rağmen anlayışını, sevgisini ve desteğini benden hiç esirgemeyen çok kıymetli hayat arkadaşım Fatmanur KOCAMAN KABİL 'e tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı ve Literatür Özeti	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Ağır Metaller	3
2.2. Karbazol ve İndol Bileşikleri	6
2.2.1. İndol ve Karbazol Temelli Floresans Sensörler	8
2.3. Ultraviyole-Görünür Bölge (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi	9
2.3.1. Işın Absorpsiyonu ve Lambert-Beer Kanunu	10
2.4. Moleküler Floresans Spektroskopisi	11
2.4.1. Moleküler Floresans Spektroskopisinde Temel Kavramlar	13
2.4.1.1. Floresans Ömrü ve Kuantum Verimi	16
2.4.1.2. Floresans Sönümlenmesi	17
2.4.1.3. Floresansı Etkileyen Faktörler	19
2.4.1.4. Spektroflorimetrenin Temel Bileşenleri	22
2.4.2. Moleküler Floresans Spektroskopisinin Uygulama Alanları	23
2.5. Moleküler Sensörler	25
2.5.1. Optik Sensörler	26
2.5.2. Floresans Sensörler	29
2.5.2.1. PET Sensörler	30
2.5.2.2. PCT Sensörler	30
3. MALZEME VE YÖNTEM	32
3.1. Yapılan Çalışmalar	32
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	32

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
3.3. Bileşiklerin Sentezi ve Yapı Karakterizasyonları	33
3.3.1.1 ve 2 Bileşiklerinin Sentezi	33
3.3.2.3 Bileşiğinin Sentezi	33
3.3.3.4 Bileşiğinin Sentezi	34
3.4. Bileşiklerin Sensör Özelliklerinin İncelenmesi	35
3.4.1. Metal Çözeltilerinin Hazırlanması	35
3.4.2. Bileşik Çözeltilerinin Hazırlanması	35
3.4.3. Uyarma Dalga Boyunun Belirlenmesi	35
3.4.4. Bileşik Çözücüsünün Tespiti	35
3.4.5. Bileşik Konsantrasyonunun Tespiti	36
3.4.6. Bileşiklerin Emisyon Spektrumlarına Metal İyonların Etkisinin Tespiti	36
3.4.7. Spektroflorimetrik Titrasyonlar	36
3.4.8. Kompleks Bileşenlerinin Belirlenmesi	36
3.4.9. Fotokararlılık	37
3.4.10. Bileşiklerin EDTA ile Gerikazanım Çalışması	37
4. DENEYSEL SONUÇLAR	38
4.1. Yapı Karakterizasyon Çalışmaları	38
4.1.1.3 Bileşiğinin Yapı Karakterizasyonları	38
4.1.2.4 Bileşiğinin Yapı Karakterizasyonları	40
4.2. Fotofiziksel ve Floresans Sensör Özelliklerinin İncelenmesi	43
4.2.1. Bileşiklerin En Yüksek Dalga Boyunun Belirlenmesi	43
4.2.2. Bileşiklerin Farklı Çözücülerdeki Floresans Spektrumları	44
4.2.3. Bileşiklerin Konsantrasyon Tespiti	45
4.2.4. Bileşiklerin Emisyon Spektrumlarına Metal İyonlarının Etkisi	46
4.2.5. Bileşiklerin Emisyon Spektrumuna Metal Karışımı İyonlarının Etkisi	47
4.2.6. Bileşiklerin Absorpsiyon Spektrumlarına Metal İyonlarının Etkisi	48
4.2.7. Bileşiklerin Metal İyonları ile Spektroflorimetrik Titrasyon ve Tespit Limitleri	49
4.2.8. Bileşiklerin Kompleks Oluşumunun Belirlenmesi	52
4.2.9. Bileşiklerin Hedef Metal İyona Karşı Fotokararlılığı	54
4.2.10. Bileşiklerin EDTA ile Gerikazanım Çalışması	54
4.2.11. Bileşiklerin Metal İyonları ile Life Time Grafikleri	56
5. SONUÇLAR	58

KAYNAKLAR

59

ÖZGEÇMİŞ

64



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u> <u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
A	: Absorbans
C	: Çözelti konsantrasyonu
ϵ	: Molar absorpsivite
h	: Plank sabiti
nm	: Nanometre
Λ	: Dalga boyu
T	: Geçirgenlik
N	: Dalga sayısı
AAS	: Atomik absorpsiyon spektroskopisi
DMSO	: Dimetilsülfoksit
EA	: Etil asetat
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
HOMO	: En yüksek enerjili dolu moleküler orbital
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ICP-MS	: İndüktif olarak eşleşmiş plazma -Kütle spektrometresi
ICP-OES	: İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi
LOD	: Tespit limiti
LUMO	: En düşük enerjili dolu olmayan moleküler orbital
MALDI	: Matris destekli lazer desorpsiyonu/ionizasyonu
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
PCT	: Işığa dayalı yük transferi
DCM	: Diklorometan
PET	: Işıma dayalı elektron transferi
THF	: Tetrahidrofuran
UV-Vis	: Morötesi-Görünür bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>		<u>Sayfa</u>
2.1:	Karbazol bileşiğinin moleküler yapısı.	7
2.2:	İndol bileşiğinin moleküler yapısı.	7
2.3:	Malzeme tarafından ışının absorplanması.	10
2.4:	Moleküllerin elektronik spin durumları; a) temel elektronik hal, b) uyarılmış singlet hal ve c) uyarılmış triplet hal.	12
2.5:	Floresans ve fosforesans için Jablonski enerji diyagramı.	14
2.6:	Monomoleküler deaktivasyon süreçleri.	14
2.7:	Bimoleküler deaktivasyon süreçleri.	15
2.8:	Statik sönmelenme mekanizması.	17
2.9:	Floresans şiddeti ile derişim arasındaki ilişki.	21
2.10:	Bir spektrofiorimetrenin bileşenlerinin şematik gösterimi.	22
2.11:	Konak - konuk etkileşimi ile moleküler sensör gösterimi.	25
3.1:	3-aldehit ve 3,6-dialdehit karbazol bileşiklerinin (1 ve 2) elde edilmesi.	33
3.2:	Karbazol köprülü ikili indol bileşiğinin (3) sentezi.	33
3.3:	Karbazol köprülü dörütlü indol bileşiğinin (4) sentezi.	34
4.1:	3 Bileşiğinin kütle spektrumu.	38
4.2:	3 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.	39
4.3:	3 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.	40
4.4:	4 bileşiğinin kütle spektrumu.	41
4.5:	4 bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.	42
4.6:	4 bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.	42
4.7:	a) 5,47x10 ⁻⁵ M'lik 3 ve b) 4,33x10 ⁻⁵ M'lik 4 bileşiklerinin DCM çözücüsünde UV-Vis absorpsiyon spektrumları.	43
4.8:	a) 5,47x10 ⁻⁵ M'lik 3 ve b) 4,33x10 ⁻⁵ M'lik 4 bileşiklerinin farklı çözücülerdeki UV-Vis absorpsiyon spektrumları.	44
4.9:	a) 1x10 ⁻⁶ M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin farklı çözücülerde ve su eklenmiş halinin emisyon spektrumları.	45

4.10:	a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin DMSO çözücüsündeki emisyon spektrumları.	46
4.11:	a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiğinin DMSO çözücüsünde farklı metal iyonları ile emisyon spektrumları.	47
4.12:	a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin DMSO çözücüsünde farklı metal iyon ve karışımları ile emisyon spektrumları.	48
4.13:	a) 5.47×10^{-5} M'lik 3 bileşiğinin ve b) 4.33×10^{-6} M'lik 4 bileşiğinin DMSO çözücüsünde 3mM Cu^{+2} ve Fe^{+3} iyonları ile absorpsiyon spektrumları.	49
4.14:	a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin DMSO çözücüsünde Fe^{+3} metal iyonunun floresans titrasyon ve kalibrasyon grafikleri c) 1×10^{-6} M'lik 3 ve d) 4 bileşiklerinin DMSO çözücüsünde Cu^{+2} metal iyonunun floresans titrasyon ve kalibrasyon grafikleri.	50
4.15:	1×10^{-6} M'lik 3 bileşiğinin DMSO çözücüsünde a) Fe^{+3} metal iyonu ve b) Cu^{+2} metal iyonu ile Job's diyagramları. 4 bileşiğinin DMSO çözücüsünde c) Cu^{+2} metal iyonu ve d) Fe^{+3} metal iyonu ile Job's diyagramları.	53
4.16:	a) 1×10^{-6} M'lik 4 ve b) 3 bileşiklerinin DMSO çözeltisinde Cu^{+2} ve Fe^{+3} metal iyonları ile fotokararlılık diyagramı.	54
4.17:	1×10^{-6} M'lik 3 bileşiği a) Cu^{+2} ve b) Fe^{+3} metal çözeltisinde EDTA ile geri kazanım emisyon spektrumları.	55
4.18:	a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin DMSO çözeltisinde Cu^{+2} ve Fe^{+3} metal iyonları ile lifetime grafikleri.	56

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1: Tez kapsamında kullanılan cihazlar.	32
Tablo 3.2: Job's denklemi için Metal-Bileşik çalışması.	37
Tablo 4.1: Literatürde sentezlenen bazı bileşikler ve tespit limitleri.	53
Tablo 4.2: Bileşik 3, 4 ve [Bileşik – Fe ⁺³] kompleksleri için floresans ömür değerleri.	56
Tablo 4.3: Bileşik 3, 4 ve [Bileşik – Cu ⁺²] kompleksleri için floresans ömür değerleri.	56

1. GİRİŞ

Fiziksel ortamdaki sıcaklık, basınç, mekanik, manyetik vb. değişiklikleri algılayan cihaz sistem ya da moleküllere “sensör” denir. Amaca yönelik farklı sensör türleri mevcut olup, kimyasal sensörler en çok ilgi görenlerdir. Kimyasal sensörler, çevresel değişkenleri, atmosferik koşulları veya bir ortamdaki kimyasal bileşikleri algılamak ve ölçmek için kullanılan cihazlardır. Floresans sensörler ise çevreye veya sağlığa zararlı olabilecek toksik metal iyonlarının veya moleküllerin algılanmasında büyük oranda öneme sahip olan kimyasal sensör sınıfıdır. Bu sensörler ağır metal iyonlarının tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır [1]. Bu iyonlar belli bir seviyeye kadar vücudumuz için gerekliyken, fazlası önemli sağlık problemlerine yol açmaktadır. Ağır metal iyonları arasında Fe^{+3} ve Cu^{+2} içme suyu ve atık su gibi çevresel alanlarda yaygın olarak görüldüğünden tespiti oldukça önemlidir [2].

Tez çalışması kapsamında, iki farklı iyonu (Fe^{+3} , Cu^{+2}) aynı anda algılayabilecek yeni tür karbazol köprülü ikili ve dörtlü indol bileşikleri sentezlenmiş, yapıları aydınlatılmış, bileşiklerin fotofiziksel ve sensör özellikleri (seçicilik, hassasiyet, kararlılık vb.) incelenmiştir.

1.1. Tezin Amacı ve Literatür Özeti

Ağır metal iyonlarının ciddi çevresel kirliliğe neden olmaları ve besin zinciri ile canlılar üzerinde toksik etkiye sahip olduklarından dolayı bu metallerin tayinine yönelik kimyasal sensörlerin geliştirilmesi önemli bir araştırma alanı olmuştur. Ağır metal tayinlerinde kullanılan indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS), indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-AES) ve atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS) gibi analitik metotlar yüksek maliyetli, zaman alıcı, uzman gerektiren ve karmaşık sistemlerdir [3], [4]. Son yıllarda, bu analitik metotlara kıyasla, büyük ölçüde kolaylık sağlayacak olan basit, düşük maliyetli, fazla çözücü kullanımına gerek duymadan ağır metalleri algılayabilecek kimyasal sensörler üzerinde yapılan çalışmalara ağırlık verilmiştir [5], [6]. Ayrıca, metal iyonlarını algılayan yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip floresans sensörler hızlı yanıt zamanı ve anlık görüntüleme gibi avantajlara da sahiptir [7], [8]. Özellikle, tek bir sensörle

birden fazla iyon algılayabildiklerinden, maliyet düşürme ve daha verimli analiz gibi avantajları nedeniyle floresans sensörler son yıllarda dikkat çekmektedir [9].

Literatürde Fe^{+3} ve Cu^{+2} gibi ağır metalleri algılamak için kinolin, naftalen-piridin, imidazol-kumarin, piren, floren, 1-Naftilamin, imidazol ve karbazol gibi farklı organik yapılarda çok sayıda sensör geliştirilmiştir [10]. Kimyasal kararlılıkları ve yüksek floresans kuantum verimi ile iyi bilinen karbazol tabanlı floresans sensörler çoklu hedeflerin tespitinde diğer floresans problemlerine göre daha nadir kullanılmaktadırlar [6], [11]. Literatürde Fe^{+3} ve Cu^{+2} 'i ayrı ayrı algılayabilen kimyasal sensörler çokça olmasına rağmen bu iki iyonu aynı anda tek bir kimyasal sensörle algılama konusunda az sayıda çalışma yapılmıştır [9].

Azot içeren organik heterosiklik bileşiklerin önemli sınıflarından birisi olan karbazol, halkaları kolaylıkla fonksiyonlandırılabilen ve başka moleküllere kolaylıkla bağlanabilen bir bileşiktir [12]. Karbazol bileşiklerinin elektrofilik aromatik substitüsyon reaksiyonlarına karşı en aktif pozisyonları C3 ve C6 konumlarıdır [13]. Literatürde, Fe^{+3} ve Cu^{+2} metal iyonlarını algılamak için farklı yapıda bileşikler sentezlenmiş ve sensör özellikleri incelenmiştir [14]–[16].

Bu tez çalışması karbazol köprülü indol bileşiklerinin sentezi ve sensör özelliklerinin incelenmesi olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. İlk aşamada Vilsmeier-Haack formilasyonu” yöntemi kullanılarak karbazol bileşiğinin aktif olan C3 ve C6 pozisyonlarına aldehit fonksiyonel grubu eklenmiştir. Daha sonra elde edilen bu tekli ve çiftli karbazol karbaldehit bileşiklerinin 3-metil indol bileşikleriyle reaksiyonundan karbazol köprülü ikili ve dördümlü indol bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerin yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR ve MALDI-TOF yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Tezin ikinci aşamasında sentezlenen iki farklı bileşiğin fotofiziksel ve sensör özellikleri UV-Vis ve floresans spektrofotometresi ile incelenmiştir. Bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} metal iyonlarına karşı hassasiyeti, seçiciliği, fotokararlılığı ve sensör özellikleri belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Ağır Metaller

Yoğunluğu 5 g/cm³'ten büyük elementler ağır metaller olarak tanımlanmaktadır. Ağır metallere bakır (Cu), kalay (Sn), çinko (Zn), krom (Cr), metal olmayan selenyum (Se), kurşun (Pb), civa (Hg), arsenik (As), alüminyum (Al), kadmiyum (Cd), kobalt (Co), nikel (Ni) ve demir (Fe) örnekleri verilebilir [17], [18]. Ağır metaller yaşamsal ağır metaller ve yaşamsal olmayan ağır metaller olmak üzere bir biyolojik bir sürece katkı sağlayıp sağlayamamasına göre iki grupta incelenir. Ağır metallerin etkileri, metalin doz miktarına ve organizmaya bağlı olarak değişen karmaşık mekanizmalara dayanmaktadır [19], [20].

Ağır metallerin çevreye salınımı, doğal kaynaklardan veya insan faktörleriyle gerçekleşebilir. Doğal kaynaklardan kaynaklanan ağır metal salınımları, volkanik olaylar, depremler ve madeni kayaçlar gibi doğal süreçlerle ilişkilidir. Volkanik patlamalar sırasında, volkanik gazlar ve lavlar içinde ağır metaller bulunabilir ve atmosfere salınabilir. Ayrıca, depremler ve tektonik hareketler sonucunda yer kabuğunda bulunan ağır metallerin serbest kalması ve su kaynaklarına karışması da doğal salınımın bir parçası olabilir. Ayrıca, bazı madeni kayaçlar doğal olarak ağır metaller içerebilir ve erozyon veya su akışıyla çevreye salınabilir.

İnsan faktörüyle gerçekleşen ağır metal salınımları ise sanayileşme ve diğer insan faaliyetleriyle ilişkilidir. Endüstriyel faaliyetler, madencilik, metal işleme, kimya üretimi, enerji üretimi ve atık yönetimi gibi alanlarda ağır metallerin kullanımını ve salınımını içerebilir. Bu faaliyetler sırasında ağır metaller, emisyonlar, atıklar veya yan ürünler olarak çevreye salınabilir. Bunun yanı sıra, tarımsal faaliyetlerde kullanılan pestisitler, gübreler ve hayvansal atıklar da çevrede ağır metal kirliliğine neden olabilir.

Bu doğal ve insan kaynaklı salınımlar, su kaynaklarına, topraklara ve atmosfere ağır metallerin yayılmasına yol açabilir. Bu durum, bitkiler, su organizmaları ve diğer canlılar üzerinde toksik etkilere neden olabilir. Ağır metal kirliliği, ekosistemlerin dengesini bozabilir, biyolojik çeşitlilik üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir ve insan sağlığına zararlı olabilir. Bu nedenle, ağır metal salınımının kontrol edilmesi, çevresel

koruma çabalarının bir parçasıdır ve düzenlemeler, teknolojik gelişmeler ve sürdürülebilir uygulamalarla bu sorunla mücadele edilmektedir.

Ağır metal iyonu Fe^{+3} , üçlü pozitif yük taşıyan demir iyonunu ifade eder. Bu iyon, bir demir atomunun üç elektron kaybetmesi sonucunda oluşur. Fe^{+3} , pozitif yüklü bir iyon olup çeşitli kimyasal, biyolojik ve çevresel süreçlerde önemli roller oynar. Demir (Fe), canlı organizmalar için hayati bir element olup oksijen taşıma, metabolik reaksiyonlarda elektron transferi ve enzimatik süreçler gibi önemli işlevlerde yer alır. Biyolojik sistemlerde, Fe^{+3} iyonları genellikle proteinler, enzimler veya diğer moleküllerle kompleks halinde bulunur ve taşınmasını ve kullanılmasını kolaylaştırır. Fe^{+3} iyonları, pozitif yükleri ve koordinasyon özellikleri nedeniyle diğer moleküller veya iyonlarla bağlanma eğilimindedir.

Çevresel bağlamda, Fe^{+3} iyonları topraklarda ve sedimanlarda demir döngüsü, demir oksit ve hidroksitlerin oluşumu ve diğer elementlerin mevcudiyeti ve hareketliliğini etkileyen redoks reaksiyonlarında rol oynar. Ayrıca, doğal su arıtma süreçlerinde de önemli bir rol oynarlar, çünkü Fe^{+3} iyonları su arıtımında koagülan olarak işlev görebilir.

Fe^{+3} iyonları, spektrofotometri, atomik emisyon spektroskopisi ve kompleksometrik titrasyonlar gibi çeşitli analitik teknikler kullanılarak tespit edilip nicelendirilir. Bu yöntemler, Fe^{+3} iyonları ile seçici reaktifler arasındaki özel etkileşimlere veya karakteristik emilim veya emisyon dalga boylarının ölçülmesine dayanır.

Demir (Fe), birçok organizma için hayati bir besindir, ancak Fe^{+3} iyonlarının aşırı düzeyleri de olumsuz etkilere neden olabilir. Demir aşırı yüklenme bozuklukları gibi belirli durumlarda Fe^{+3} birikimi, oksidatif stres ve doku hasarına yol açabilir. Demir seviyelerinin uygun bir şekilde yönetilmesi, temel işlevler ile potansiyel toksisite arasında bir dengeyi korumak için önemlidir.

Bu sensörler, Fe^{+3} iyonlarına seçici olarak bağlanabilen ve bu etkileşim sonucunda ölçülebilir bir floresans sinyali üreten bileşiklerdir. Fe^{+3} iyonları, genellikle birçok biyolojik ve çevresel sistemde önemli bir rol oynar. Bu nedenle, bu iyonların hassas bir şekilde tespit edilmesi önemlidir. Floresans sensörler, bu tespit için etkili bir araç olabilir. Fe^{+3} iyonlarına yönelik floresans sensörler, genellikle iki bileşenden oluşur: bir reseptör molekülü ve bir florofor. Reseptör molekülü, Fe^{+3} iyonlarına özgü olarak tanıyabilir ve seçici olarak bağlanabilir. Bağlanma sonucunda, reseptörün yapısında bir değişim meydana gelir. Bu yapısal değişiklik, bağlı florofor'un floresans

özelliklerinde bir değişime neden olur. Fe^{+3} iyonlarıyla etkileşen bir floresans sensör, Fe^{+3} iyonlarının varlığında bir floresans sinyali üretir. Bu sinyal, floresans özelliklerde bir değişim olarak gözlenebilir, örneğin floresans yoğunluğunda bir artış veya azalma, floresansın dalga boyunda veya ömründe bir değişiklik şeklinde olabilir.

Floresans sensörler, Fe^{+3} iyonlarının tespitini sağlamak için kullanışlı ve duyarlı bir yöntem olabilir. Bu sensörler, biyomedikal araştırmalardan çevresel analizlere kadar birçok alanda potansiyel uygulamalara sahiptir. Ancak, sensörün tasarımı ve optimizasyonu, selektivite, duyarlılık, kararlılık gibi faktörleri dikkate alarak yapılmalıdır.

Cu^{+2} , bakır atomları oksidasyona uğradığında oluşan pozitif yüklü bir iyondur. Sulu çözeltilerde, Cu^{+2} iyonları su molekülleri ile koordinasyon kompleksleri oluşturma eğilimindedir. Hidratlı bakır iyonları olarak bilinen bu kompleksler, çeşitli kimyasal ve biyolojik işlemlerde rol oynar. Bakır iyonları biyolojik sistemlerde önemli işlevlere sahiptir. Enzimatik reaksiyonlarda yer alırlar ve oksijenin taşınmasında, elektron transferinde ve antioksidan savunma mekanizmalarında rol oynarlar. Bakır, sinir sisteminin, bağışıklık sisteminin düzgün çalışması ve bağ dokularının oluşumu için gerekli olan insanlar için gerekli bir eser elementtir. Bununla birlikte, aşırı bakır seviyeleri toksik olabilir. Cu^{+2} iyonları yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunda oksidatif strese neden olabilir, hücresel yapıları zarar verebilir ve normal biyolojik süreçleri bozabilir. Bakır toksisitesi, gastrointestinal rahatsızlıklar, karaciğer ve böbrek hasarı ve nörolojik bozukluklar gibi semptomlara yol açabilir. Endüstriyel uygulamalarda, bakır iyonları galvanik kaplamada, elektrik iletkenlerinde ve çeşitli kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak kullanılır. Su kaynaklarında bakır iyonlarının varlığı, potansiyel çevresel etkisi nedeniyle de endişe verici olabilir.

Genel olarak, bakır iyonları (Cu^{+2}), konsantrasyonlarına ve içeriklerine bağlı olarak hem yararlı hem de potansiyel olarak zararlı etkilere sahiptir. Bakır seviyelerinin uygun yönetimi ve düzenlenmesi, güvenli kullanımını sağlamak ve çevre ve sağlık risklerini en aza indirmek için önemli bir konudur.

Cu^{+2} tespiti için floresans sensörler, floresans özelliklere dayanarak numune bakır iyonlarının varlığını seçici ve hassas bir şekilde tespit etmek için tasarlanmaktadır. Bu sensörler, floresans bir prob kullanarak Cu^{+2} iyonları ile belirli bir etkileşim veya bağlanma gerçekleştirerek floresans sinyalinde değişiklik meydana getirir.

Cu^{+2} tespiti için flüoresan sensörlerin tasarımı genellikle bakır iyonları için yüksek bir afiniteye sahip olan bileşik veya reseptör molekülünü içermeyi gerektirir. Bu bileşik veya reseptör, Cu^{+2} iyonlarıyla seçici olarak bağlanır ve sensörün floresans özelliklerinde değişikliğe neden olur. Bağlanma olayı, sensörün floresans sinyalini ya artırır ya da bastırır ve bu, sensörün spesifik tasarımına bağlıdır.

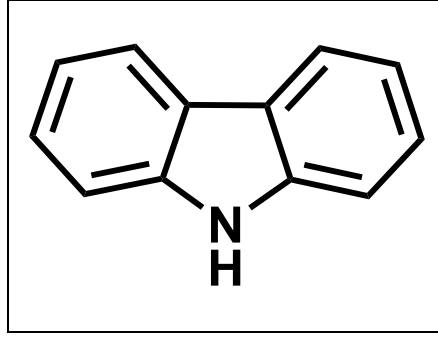
Cu^{+2} iyonları yokken, floresans prob genellikle belirli bir düzeyde floresans emisyonu gösterir. Ancak Cu^{+2} iyonları mevcut olduğunda, proba etkileşime girerek flüoresans yoğunluğunda, emisyon dalga boyunda veya floresans ömründe ölçülebilir bir değişiklik meydana getirir. Bu floresans değişikliği, numunedeki Cu^{+2} iyonlarının konsantrasyonu ile nicel olarak ilişkilendirilebilir.

Cu^{+2} tespiti için flüoresan sensörler, yüksek duyarlılık, seçicilik ve gerçek zamanlı izleme yetenekleri gibi birçok avantaj sunar. Çevresel izleme, biyolojik araştırmalar ve endüstriyel uygulamalar gibi farklı alanlarda, Cu^{+2} iyonlarının doğru tespiti ve nicelendirilmesi önemlidir ve bu nedenle bu sensörler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Belirli floresans problemleri ve sensör tasarımları, hedeflenen uygulama ve Cu^{+2} tespiti gereksinimlerine bağlı olarak değişebilir. Araştırmacılar, farklı numune Cu^{+2} tespitinin duyarlılığını ve seçiciliğini artırmak için sürekli olarak yeni floresans tabanlı algılama stratejileri geliştirmekte ve optimize etmektedir.

2.2. Karbazol ve İndol Bileşikleri

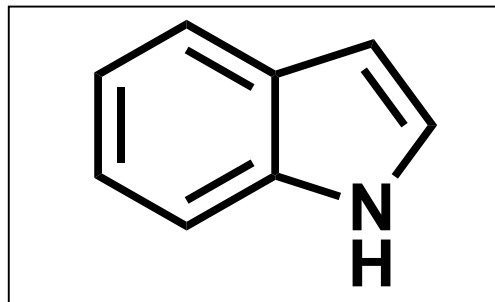
Karbazol ($\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}$), beş üyeli pirol halkasının her iki tarafından kaynaşmış altı üyeli iki benzen halkasından oluşan azot grubu içeren önemli aromatik heterosiklik organik bir bileşiktir (Şekil 2.1) [21]. Karbazol bileşiği ilk olarak 1872 yılında Graebe ve Glazer tarafından kömür katranından izole edilerek elde edilmiştir [22], [23]. Daha sonra farklı başlangıç bileşiklerinden yola çıkarak çeşitli sentez yöntemleri kullanılarak karbazol ve türevleri laboratuvar ortamında başarılı bir şekilde sentezlenmiştir [24], [25]. Karbazollerin yoğun emisyonu, metallere bağlanma yeteneği, elektron iletkenliği ve kimyasal kararlılığı gibi özellikleri bu moleküllere olan ilgiyi artırmıştır [26].



Şekil 2.1: Karbazol bileşiğinin moleküler yapısı.

Karbazoller, polimerik ışık yayan diyotlar (PLED'ler) ve organik ışık yayan cihazlar (OLED'ler) gibi fotofiziksel malzemelerde önemli bir yapı taşı olarak kullanılmaktadır [24]. Bunun yanı sıra karbazoller, ilaç kimyası alanında, boyar madde ve pigment olarak tekstil ve baskı endüstrisinde ve güneş hücreleri gibi fotovoltaiik cihazlarda kullanılmaktadır. Karbazol ve türevlerinin çok yönlü ve çeşitli özellikleri, birçok endüstri ve araştırma alanında bu bileşikler değerli kılmaktadır.

Azot grubu içeren bir diğer önemli heterohalka sınıfı ise pirol ve benzen halkasından oluşan indol bileşiğidir (Şekil 2.2) [27]. İndol bileşiği ilk olarak, 1866 yılında A.V. Baeyer ve C.A Knop tarafından doğal boya olan temel bileşeni olan indigo'dan elde edildikten sonraki yıllarda indol üzerinde birçok çalışma yapılmıştır [28]. 1910 yılında R. Weissgerber tarafından yapılan bir çalışma sonucunda kömür katranında ilk kez indol görülmüştür [28]. İndol sentez yöntemi üzerine oldukça fazla çalışmalar yapılmasına rağmen sahip olduğu özelliklerden dolayı günümüzde de bu çalışmalar devam etmektedir.



Şekil 2.2: İndol bileşiğinin moleküler yapısı.

Yasemin yağı ve portakal çiçeği yağının bir bileşeni olan indol, uzun yıllardır kokuları sabitlemek için birçok parfüm içeriklerinde kullanılmaktadır [28]. Ayrıca,

indol türevleri, antidiyabetik, antikanser, antimikrobiyal, anti-HIV, antiviral, antiinflamatuvar, antioksidan, antikolinesteraz, antitüberküler ve antimalaryal aktiviteler gibi farklı biyolojik aktiviteler gösterdiklerinden ilaç moleküllerinde de bulunmaktadır [29]. Bilindiği üzere, indol halkalı bileşikler serotonin, melatonin ve triptofan gibi maddelerin ana yapısını oluşturmaktadır [30].

2.2.1. İndol ve Karbazol Temelli Floresans Sensörler

Son yıllarda, ağır metal iyon kontaminasyonu çevre kirliliğine neden olan önemli etkenlerden biri olmuştur. Elektronca zengin olan indol bileşikleri önemli floresans özellikler göstermektedir [31]. İndol yapısındaki nitrojen atomu, metal iyonlarını bağlama bölgesi olarak işlev görmektedir. Son yıllarda indol ve türevleri, benzersiz floresans karakterlerinden dolayı çeşitli metal iyonlarını tespit etmek için floresans kemosensörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır [32].

Bu sensörler, analit molekülleriyle etkileşime girdiklerinde floresans özelliklerinde değişiklikler gösterirler. Bu değişiklikler, analitin türüne veya konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık gösterebilir. Etkileşim sonucunda, floresans spektrumunda, emisyon dalga boyunda veya floresans yoğunluğunda değişiklikler oluşabilmektedir.

İndol temelli floresans sensörler, metal iyonları, biyomoleküller, çevresel kirleticiler ve biyolojik süreçlerin izlenmesi gibi birçok uygulama alanında kullanılabilirler. Bu sensörler, çeşitli yöntemlerle sentezlenebilmektedir. Sensör tasarımı, indol halkasının üzerine farklı fonksiyonel gruplar eklenerek veya farklı substitüentlere sahip indol bileşikleri sentezlenerek gerçekleştirilebilir. Bu tasarım stratejileri, sensörün hedef analit molekülüyle etkileşimini optimize etmeyi amaçlar.

Sonuç olarak, indol temelli floresans sensörler, hassas ve seçici analit tespiti için kullanılan floresans tabanlı sensörlerdir. Yüksek floresans verimliliği, kolay sentezlenebilirlik ve geniş analit tespit aralığı gibi avantajları nedeniyle çeşitli uygulama alanlarına sahiptirler.

Karbazol temelli floresans sensörler ise, karbazol bileşiğinden türetilen ve floresans özelliklere sahip moleküllerdir. Bu sensörler, belirli analit moleküllerin varlığını tespit etmek için kullanılan moleküler sensörlerdir. Karbazol, floresans özelliği olan aromatik yapıya sahip olan heterosiklik bir bileşiktir. Sensör moleküllerine hedef analit molekülleri bağlandığında veya etkileşime girdiğinde,

floresans özelliklerinde değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler, analit molekülün varlığını ve konsantrasyonunu belirlemek için floresan ölçümleri yaparak tespit edilebilir.

Karbazol temelli floresan kemosensörlerin yüksek seçicilik, duyarlılık, hızlı tepki süreleri ve uygulama çeşitliliği gibi birçok avantajları vardır. Karbazol temelli floresans kemosensörler, biyolojik sistemlerde, çevresel analizlerde ve kimyasal tespit uygulamalarında kullanılabilir. Örneğin, biyosensörler olarak kullanıldıklarında, spesifik analit moleküllerin varlığını tespit ederek biyolojik süreçleri izleyebilirler. Bu, tıbbi teşhis, ilaç keşfi ve biyomedikal araştırmalarda önemli bir rol oynayabilir.

2.3. Ultraviyole-Görünür Bölge (UV-Vis) Absorpsiyon Spektroskopisi

Ultraviyole ve görünür bölge (UV-Vis) spektroskopisi, bir moleküldeki elektronik enerji seviyeleri arasındaki elektron geçişlerinin ışınların soğurulması sonucunda meydana geldiği bir spektroskopi tekniğidir. UV-Vis spektrometreler ise tipik olarak ultraviyole ve görünür bölgelerde meydana gelen absorpsiyonları (200-1000 nm) ölçen ve kaydeden cihazlardır. UV-Vis aralığındaki ışınların enerjisi ve frekansı kızılötesi ışınlardan daha yüksektir. Bu nedenle, daha düşük dalga boylu ışınlardır. Spektrumun görünür bölge (400 ile 800 nm) dalga boyu aralığında absorpsiyon yapan ışınlar, insan gözüne renkli olarak görünmektedir. Bu renk, absorpsiyonun meydana geldiği dalga boylarının tamamlayıcı rengini göstermektedir. Birçok bileşik, ultraviyole bölgesinde güçlü absorpsiyon bantlarına sahiptir. Mor rengi beyaz ışıktan çıkarmak, ek renkler bırakmaktadır. Bu nedenle birçok organik bileşik sarı-turuncu arasında bir renkte görülür. 400 nm'den 800 nm'ye gidildiğinde bileşiklerin absorpsiyonu sarı, turuncu, kırmızı renklerinden yeşil, mavi, mor ve siyah renklerine doğru bir değişimine uğramaktadır [33], [34].

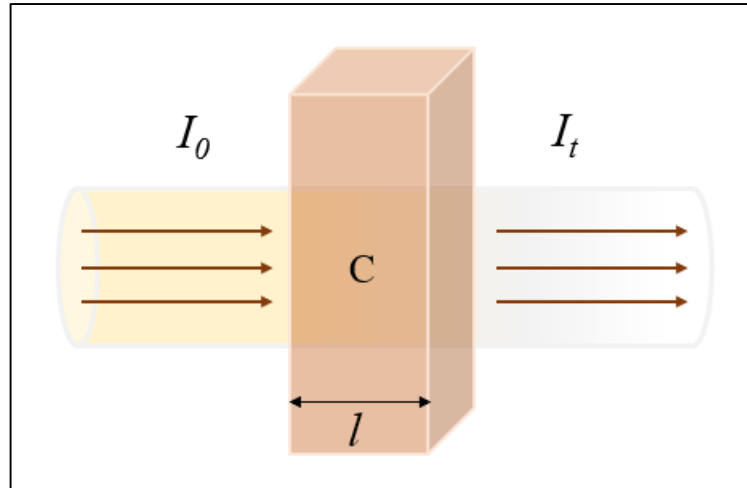
Ultraviyole ve görünür aralıklardaki moleküllerin absorpsiyonunun kantitatif bir ifadesi olan molar absorpsiyon katsayıları (ϵ), 0 ile 10^5 aralığında değer alabilmektedir. Molar absorpsiyon katsayılarının büyüklüğü ise bir absorpsiyon piki için, yakalama kesitine ve enerji absorplayan geçişin gerçekleşme olasılığına bağlı olarak değişmektedir [35]. Molar absorpsiyon ile diğer değişkenler arasındaki ilişki Eşitlik 2.1' de gösterilmiştir. Eşitlikte A ve P, sırasıyla hedef alanın cm^2 cinsinden kesit alanını ve geçiş olasılığını ifade etmektedir.

$$\varepsilon = 8.7 \times 10^{19} \text{ P.A} \quad (2.1)$$

X-ışını ve elektrot kırınım teknikleri ile belirlenen organik maddelerin kesit alanları yaklaşık 10^{-15} cm^2 iken, geçişin gerçekleşme olasılığı 0-1 arasında değişmektedir. Kuantum mekanik potansiyel geçişleri, 0.1-1 aralığında P değerlerine sahiptir. Bu potansiyel geçişler, molar absorpsiyon katsayısının 10^4 - $10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ 'e ulaştığı güçlü absorpsiyon bölgelerine yol açmaktadır. Molar absorpsiyon katsayısının (ε), 10^3 'den küçük olduğu düşük şiddete sahip piklerin olma olasılığı ise 0.01'den daha düşüktür [33], [36].

2.3.1. Işın Absorpsiyonu ve Lambert-Beer Kanunu

Farklı dalga boylarında ışınlar içeren bir ışın demeti saydam bir ortamdan geçtiğinde, dalga boylarının bir kısmının bu ortamda absorplandığı gözlenir. Bu olguya absorpsiyon denir [34]. Lambert - Beer yasası, absorpsiyon spektroskopisinde bir numunenin elektromanyetik dalgaları ne kadar absorbe ettiğini ifade eder. Şekil 2.3, bir numunenin içerisinden geçen bir ışını absorplama sürecini göstermektedir.



Şekil 2.3: Malzeme tarafından ışının absorplanması.

Işın 1 cm'lik bir numuneden geçtiğinde ışık yoğunluğundaki değişiklik ölçülerek ışın absorpsiyonu, dalga boyunun (λ) veya dalga sayısının ($\nu = \lambda^{-1}$) bir fonksiyonu

olarak kaydedilir. Eşitlik 2.2, C konsantrasyonunda bir numune için Lambert-Beer yasası denklemini göstermektedir.

$$\log \frac{I_0}{I_t} = \varepsilon \times l \times C = A \quad (2.2)$$

Eşitlikte, I_0 , I_t , ε ($\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), l (cm), C (mol.L^{-1}) ve A sırasıyla ışın kaynağından çıkan monokromatik ışının şiddeti, numune kabından çıkan ışın şiddeti, molar absorpsiyon katsayısı, ışının çözelti içinde aldığı yol, çözelti konsantrasyonu ve absorbansı ifade etmektedir. Bu eşitlik, numuneden geçen ışın yoğunluğunun (I_0) artan yol uzunluğu (l) ve numune konsantrasyonu (C) ile azaldığını göstermektedir.

$$T = \frac{I_t}{I_0} = -\log A \quad (2.3)$$

Numuneden geçen ışın yoğunluğunun (I_t), ışın kaynağından çıkan ışın yoğunluğuna (I_0) oranı, geçirgenlik (T) olarak ifade edilir. Geçirgenlik ve absorbans arasındaki ilişki Eşitlik 2.3'te gösterilmiştir.

2.4. Moleküler Floresans Spektroskopisi

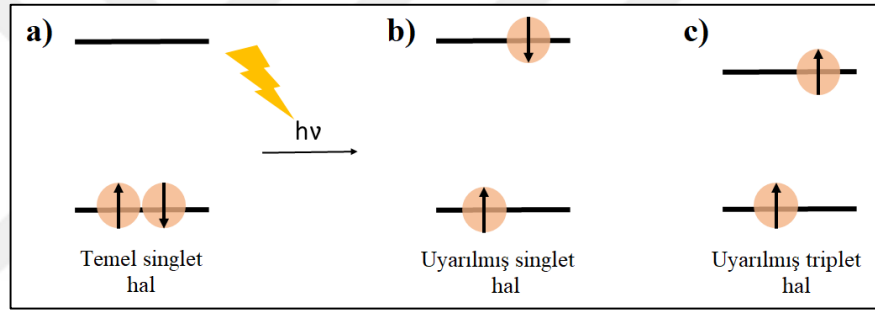
Moleküler floresans spektroskopisi, moleküllerin floresans özelliklerini inceleyen bir analiz yöntemidir. Bu teknik, bir molekülün floresans yayılmasına ve absorplanmasına dayanır. Moleküller, belirli dalga boylarındaki ışığı absorplayabilir ve daha uzun dalga boylarında ışığı yayabilirler. Bu floresans özellikleri, moleküllerin enerji düzeyleri arasındaki geçişlerden kaynaklanmaktadır.

Bir molekül floresans hale gelirken, ilk olarak temel halden uyarılmış duruma geçer. Bu uyarılmış durum, molekülün elektronlarının enerji düzeylerinde bir değişikliğe yol açar. Molekül, bu enerjiyi yaymak için daha düşük enerji düzeyine geri dönerken floresans ışık yaymaktadır. Bu floresans ışığın dalga boyu ve yoğunluğu, molekülün kimyasal yapısı ve çevresel etkiler tarafından belirlenmektedir.

Moleküler floresans, moleküler fosforesans ve kemilüminesans, farklı türlerde ışık yayma fenomenlerini tanımlayan terimlerdir [37]. Moleküler floresans, bir molekülün dışarıdan alınan enerjiyle uyarıldığında, kısa bir süre için daha yüksek bir enerji seviyesine geçmesi ve daha sonra bu enerjiyi yayarak geri dönmesi sürecidir.

Floresanın bir alt kümesi olan moleküler fosforesans ise, uyarıldıktan sonra enerjiyi daha uzun bir süre boyunca depolayarak yayma özelliğine sahiptir. Floresansın aksine, fosforesans moleküller uyarıldıktan sonra enerjiyi daha yavaş bir şekilde serbest bırakır ve bu nedenle fosforesansın yaydığı ışık, uyarıcı enerji kaynağı kesildikten sonra bile bir süre devam edebilir. Kemilüminesans ise floresans ve fosforesanstan farklı olarak, kimyasal reaksiyonlarda oluşan ışık yaymayı ifade eder. Bir kimyasal tepkime sonucunda ortaya çıkan enerji, ışık olarak serbest bırakılır [34].

Işının absorpsiyonu ile bir üst elektronik enerji seviyesinde bulunan molekülün, kararlı hali olan temel hale geçmesi için mümkün olan iki yol vardır. Bunlardan biri ışıınımsız geçiştir. Bu geçişte sistem ortaya çıkan enerjiyi çevresine ısı olarak verir. Bu ısı ortamın sıcaklığını artırmaya yetmez sadece moleküllerin kinetik enerjilerini artırır, diğeri ise ışığın geçişi, floresans ve fosforesans olarak bilinir [34].



Şekil 2.4: Moleküllerin elektronik spin durumları; a) temel elektronik hal, b) uyarılmış singlet hal ve c) uyarılmış triplet hal.

Bir atom temel durumuna dönerken, elde ettiği enerjiyi bir enerji paketi halinde salar. Bu enerji salınımı bir spektrum emisyonuna yol açar [38]. Şekil 2.4' de gösterildiği gibi singlet ve triplet uyarılmış durumların elektron spinleri birbirinden farklıdır. Moleküllerin elektronik spin durumları, elektronların molekül içinde nasıl dağıldığını ve spin yönelimlerini tanımlar. Elektron spin'i temel bir kuantum özelliğidir ve iki olası değere sahip olabilir: "yukarı" (+1/2) veya "aşağı" (-1/2). Singlet uyarılmış durumda elektron spinleri zıt yönde iken, triplet uyarılmış durumda elektron spinlerinin paralel yönlerde hizalandığı gözlenir [39].

2.4.1. Moleküler Floresans Spektroskopisinde Temel Kavramlar

En yaygın lüminesans süreçlerinden biri olan floresans'da, bir molekül fiziksel, mekanik veya kimyasal mekanizmalar tarafından oluşturulan uyarılmış bir durumdan elektriksel olarak ışın yaymaktadır [40]. Birçok elementel parçacık, oda sıcaklığında temel hallerinde bulunur. Işığın bir molekül tarafından soğurulması sonucunda meydana gelen fotofiziksel süreçler, Şekil 2.5 'deki Jablonski diyagramında gösterilmektedir. Jablonski diyagramı, çeşitli enerji seviyelerini ve molekülün fotofiziksel süreçlerini temsil etmektedir. Bu diyagram, bir molekülün temel halinden (S_0) uyarılmış hallerine ($S_1, S_2, \dots S_n$) geçişlerini gösterir. Floresanstan fosforesansa, iç dönüşümlere ve diğer süreçlere kadar foton emilimiyle ilişkili olayları açıklamak için kullanılır. Aşağıda Şekil 2.5'te gösterilen Jablonski diyagramındaki bazı önemli süreçlerin açıklamaları bulunmaktadır[1]:

S_0 (Singlet Temel Durum): Molekülün en düşük enerji seviyesidir. Elektronlar bu seviyede temel halde bulunur.

S_1, S_2 , vb. (Singlet Uyarılmış Durumlar): Bu enerji seviyeleri, molekülün bir foton absorbe etmesi sonucunda elektronların yükseltilmiş enerji seviyelerine geçtiği uyarılmış hallerdir.

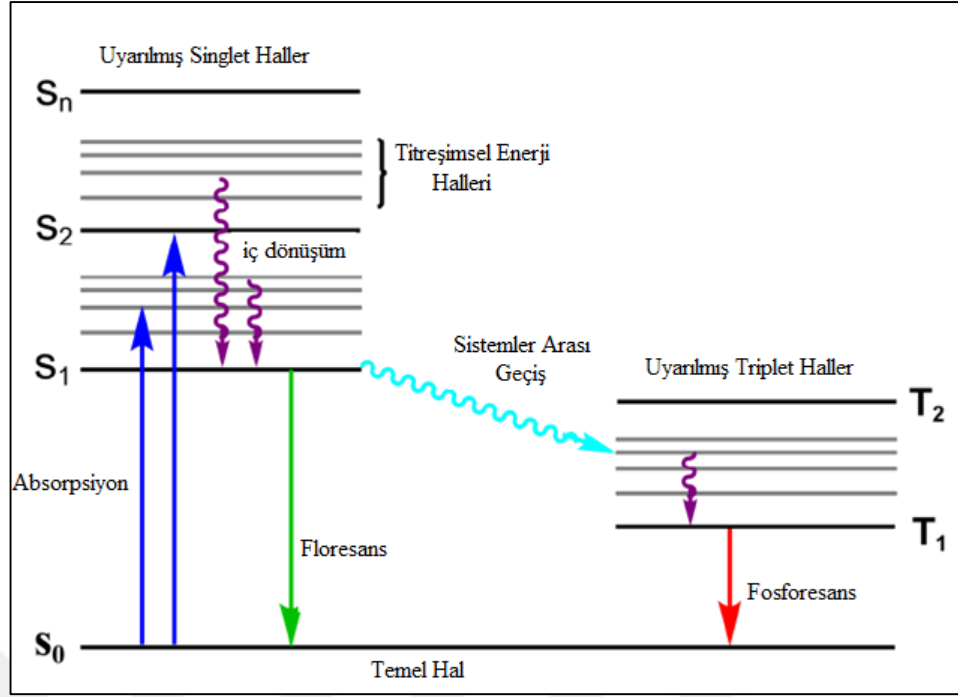
Absorpsiyon: Singlet temel halden singlet uyarılmış hale doğru olan bir elektronik geçiştir. Bu geçiş, spektroskopik olarak izin verilen bir olaydır. Zaman açısından, singlet absorpsiyonu yaklaşık 10^{-15} saniye içinde emilir.

Sistemler arası geçiş: Bu geçiş bir enerji transferi sürecidir. Bu süreçte, bir molekülün bir singlet uyarılmış durumdan (S_1, S_2 , vb.) triplet uyarılmış bir duruma (T_1, T_2 , vb.) geçişi gerçekleşir.

İç Dönüşüm: Bir molekülün uyarılmış hallerden daha düşük enerji seviyelerine geri dönmesini ifade eder. Bu süreçte, molekül içindeki enerji, titreşimler veya moleküler rotasyonlar yoluyla dağıtılabilir. Zaman açısından, iç dönüştürme olayları genellikle 10^{-11} ile 10^{-9} saniyelik zaman aralıklarında gerçekleşir.

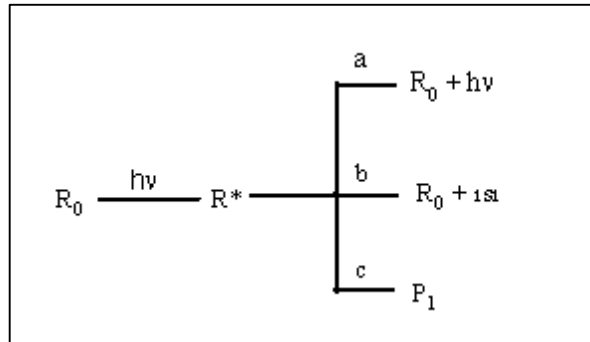
Floresans: Bir molekülün bir fotonu absorbe ettikten sonra uyarılmış bir halden singlet temel duruma ($S_1 \rightarrow S_0$) elektronik geçiş yapmasıdır. Floresans olayları 10^{-10} ile 10^{-7} saniyelik zaman aralıklarında meydana gelir.

Fosforesans: Bir molekülün bir fotonu absorbe ettikten sonra uyarılmış bir halden singlet temel duruma ($T_1 \rightarrow S_0$) elektronik geçiş yapmasıdır. Fosforesans olayları 10^{-6} ile 1 saniyelik zaman aralıklarında meydana gelir.



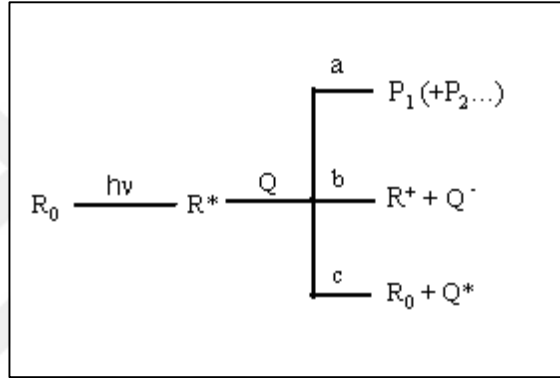
Şekil 2.5: Floresans ve fosforesans için Jablonski enerji diyagramı.

Uyarılmış durumların deaktivasyonu yalnızca fotokimyasal olaylarla değil, aynı zamanda Jablonski diyagramı tarafından tanımlanan fotofiziksel olaylarla da meydana gelebilir. Fotokimyasal süreçler genellikle uyarılmış hallerde meydana gelir. Fotokimyasal olaylar monomoleküler (tek moleküllü) veya bimoleküler (iki moleküllü) olarak meydana gelebilir. Tek moleküllü bir süreç Şekil 2.6'da gösterildiği gibi gerçekleşmektedir [41]. Monomoleküler deaktivasyon süreci, tek bir molekülün uyarılmış halinden temel hale geri dönme sürecini ifade eder. Bu süreçte, uyarılmış bir molekül enerji kaybederek temel haline geçer.



Şekil 2.6: Monomoleküler deaktivasyon süreçleri.

Şekil 2.6' da a ve b floresans ve iç dönüşüm gibi fotofiziksel olayları temsil ederken, c ise fotokimyasal bir süreci göstermektedir. R_0 , temel haldeki molekülü, R^* uyarılmış haldeki molekülü, P_1 ise uyarılma sonucu oluşan herhangi bir ürünü temsil etmektedir. Monomoleküler deaktivasyon süreci, uyarılmış molekülün enerjisini etkileşime girebileceği diğer moleküllerle transfer ettiği bimoleküler etkileşimlerle de gerçekleşebilmektedir. Bimoleküler deaktivasyon süreci, iki molekül arasındaki etkileşim sonucunda bir molekülün uyarılmış halinden temel hale geri dönme sürecidir. Bimoleküler etkileşimler incelenirken, R^* 'ye ek olarak, Q molekülleriyle etkileşime girebileceği varsayılır. Bimoleküler deaktivasyon süreci Şekil 2.7' de gösterilmektedir [41].



Şekil 2.7: Bimoleküler deaktivasyon süreçleri.

Bimoleküler deaktivasyon sürecinde uyarılmış durumdaki molekül R^* temel durumdaki Q molekülü ile etkileşime girip P_1 veya $P_1+P_2+\dots$ gibi bir ya da daha çok ürün oluşturabilir. Ya da uyarılmış durumdaki R^* molekülü, temel durumdaki Q molekülüne bir elektron vererek Şekil 2.7' deki b sürecinde görüldüğü gibi R^+ ve Q^- durumlarını da oluşturabilir.

Bimoleküler deaktivasyon sürecinde herhangi bir ışıma yapmadan da uyarılmış bir molekülün enerjisi temel haline geri dönebilir. Bu deaktivasyon süreci, moleküller arasındaki enerji transferiyle gerçekleşir, ancak enerji, floresans veya fosforesans gibi ışıma yoluyla değil, başka bir şekilde dağıtılır. Molekülün uyarılma enerjisini başka bir moleküle aktarıp ışımasız bir şekilde temel haline geri dönme sürecine “sönme” denir. Belirli bir enerjiye sahip olan uyarılmış molekül, enerjisini başka bir moleküle aktararak temel haline geri döner. Bu aktarım, moleküller arasındaki çarpışma veya elektromanyetik etkileşimler yoluyla gerçekleşebilir. Bu süreçte, enerji, diğer

moleküllerin titreşim veya rotasyon hareketlerini artırarak veya elektron transferi yoluyla dağıtılabilir. Bu nedenle, enerji moleküller arasında aktarılır ve ışık yayılmadan temel hale geri dönme gerçekleşir. Bimoleküler deaktivasyon sürecinde, uyarılmış molekül ve başka bir molekül arasında bir kompleks oluşabilir [42]. Bu kompleks, enerjinin dağıtılması ve temel hale dönüş sürecini kolaylaştırır. Kompleks oluşumu, moleküler etkileşimlerin sonucunda gerçekleşebilir. Uyarılmış molekül, başka bir molekülle çarpışarak da enerjisini transfer edebilir. Bu çarpışmalar sonucunda uyarılmış molekül enerjisinin bir kısmı dağılır ve temel haline geri döner.

2.4.1.1. Floresans Ömrü ve Kuantum Verimi

Floresans ömrü ve kuantum verimi, floresans maddelerin optik özelliklerini tanımlamak için kullanılan önemli parametrelerdir. Floresans ömrü, bir floresans molekülün uyarıldıktan sonra ışık emisyonunun ne kadar süreyle devam ettiğini ifade eder. Floresans ömrü, floresans molekülün uyarılma enerjisini absorbe etmesinden sonra uyarılmış durumda kalma süresine denktir. Floresans ömrü, floresans maddenin moleküler yapısına, çevresel koşullara ve etkileşimlere bağlı olarak değişebilir. Örneğin, bazı floresans maddeler daha uzun floresans ömrüne sahipken, diğerleri daha kısa floresans ömrüne sahip olabilir. Floresans ömrü genellikle nanosaniye (10^{-9} s) ile mikrosaniye (10^{-6} s) arasında değişir.

Kuantum verimi ise, bir floresans maddenin absorbe ettiği ışık enerjisinin ne kadarının floresans olarak geri yayıldığını gösteren bir ölçüdür. Kuantum verimi yüzdesel bir değer olarak ifade edilir. Yüksek kuantum verimine sahip bir floresans madde, absorbe ettiği ışık enerjisinin büyük bir kısmını floresans emisyon olarak geri verirken, düşük kuantum verimine sahip bir floresans madde daha az ışık enerjisini geri yayar. Kuantum verimi, floresans maddenin içsel verimliliğine, yani uyarılan hallerin floresans emisyonu olarak ne kadar verimli bir şekilde radyasyon yapabildiğine bağlıdır. Güçlü floresans maddenin kuantum verimi bire çok yakındır. Buna karşılık, floresans olmayan türlerin kuantum verimi sıfırdır [40].

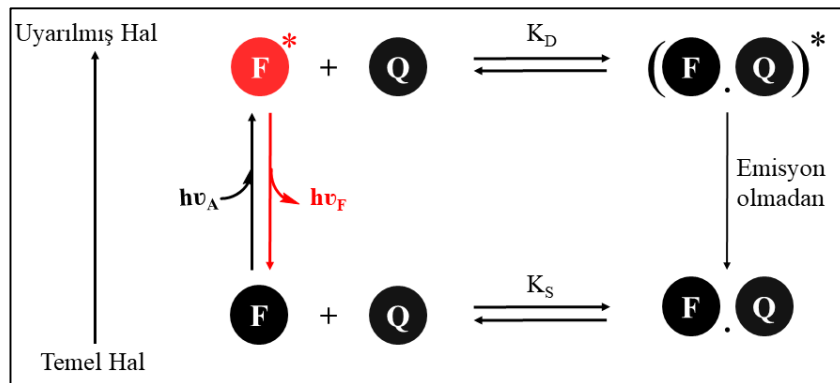
Floresans ömrü ve kuantum verimi, floresans maddelerin optik özelliklerini anlamak, floresans etiketleme uygulamalarında ve optoelektronik cihazların tasarımında önemli rol oynar. Yüksek kuantum verimi ve uzun floresans ömrüne sahip floresans maddeler, daha verimli floresans etiketleme ve daha yüksek performanslı optoelektronik cihazlar için tercih edilen seçeneklerdir.

2.4.1.2. Floresans Sönümlenmesi

Bir molekülün floresans emisyon yoğunluğu, elektronik olarak uyarılmış durumdaki moleküler değişiklikler, enerji transferleri, çarpışmalar ve temel durum kompleks oluşumu gibi işlemlerle azaltılabilir. Bu duruma "floresans sönümlenmesi" denir. Floresans sönümlenmesi, farklı mekanizmalar yoluyla gerçekleşebilir, ancak genel sonuç, floresans sinyalinde bir azalmadır.

Floresans sönümlenmesi, oluşum mekanizmasına göre dinamik ve statik olmak üzere iki kısma ayrılır [42]. Çarpışmalı sönümlenme olarak da bilinen dinamik sönümlenme, uyarılmış floroforun etraftaki bir söndürücü molekülle karşılaşması durumunda gerçekleşir. Uyarılmış durumdan gelen enerji çarpışma yoluyla söndürücüye transfer edilir, bu da enerjinin dağılmasına ve azalmış floresans yayınlamasına neden olur. Dinamik sönümlenme oluşması için, sönümleyici maddelerin miktarı elektronik olarak uyarılmış bir molekülün sönümleyici ile etkileşimine olanak sağlayacak şekilde yeterli düzeyde olmalıdır.

Statik sönümleme de ise, florofor bir söndürücü molekülle bir kompleks oluşturur ve bu da floresans yoğunluğunda azalmaya yol açar. Kompleks oluşumu, hidrojen bağı veya van der Waals kuvvetleri gibi kovalent olmayan zayıf etkileşimler aracılığıyla gerçekleşebilir. Şekil 2.8’de gösterildiği gibi, statik sönümlenme, temel durumdaki florofor molekülüyle (F) sönümleyici (Q) arasında oluşan kompleks veya bu kompleksin floroforun uyarılmasından sonra oluşmasıyla gerçekleşen floresans özelliği olmayan süreçtir [35].



Şekil 2.8: Statik sönümlenme mekanizması.

Stern-Volmer eşitliği (Eşitlik 2.4), floresans sönümleme analizlerinde kullanılan bir denklemdir. Bu denklem, floresans molekülün floresans emisyonunun sönümleme derecesini ve sönümleme mekanizmasını açıklamaktadır. Ayrıca, floresans sönümlemenin, sönümleyici molekülün konsantrasyonuna bağlı nasıl değiştiğini göstermektedir.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (2.4)$$

Bu eşitlikte, I_0 , I , K_{sv} ve Q sırasıyla floresans molekülün sönümleme olmadığı durumdaki floresans yoğunluğunu, sönümleme olduğu durumdaki floresans yoğunluğu, Stern-Volmer sabiti ve floresans molekülün etkileşime girdiği sönümleyici molekülün konsantrasyonunu temsil etmektedir. Sönümleyici bileşiğin etkinliğinin bir ölçüsü olan K_{sv} sabiti ne kadar yüksekse, sönümleme etkisi o kadar güçlü olmaktadır. Stern-Volmer sabiti (K_{sv}) ise floresans molekülün sönümleyici ile etkileşmeden önceki floresans ömrü (τ_0) ve bimoleküler sönümleme sabitine (k_q) bağlı olarak değişmektedir (Eşitlik 2.5).

$$K_{sv} = 1 + k_q\tau_0[Q] \quad (2.5)$$

Sönümleme verileri genellikle I_0/I (sönümsüz floresans yoğunluğu ile sönümlü floresans yoğunluğunun oranı) değerlerinin $[Q]$ (sönümleyici konsantrasyonu) ile ilişkilendirildiği bir grafik olarak gösterilir. Bu grafik, sönümleme mekanizmasını ve etkileşimlerin kinetiğini anlamak için kullanılır. Bu grafikte, $[Q]$ değerlerine karşı I_0/I 'nın bir doğru olarak çizilmesiyle elde edilen doğru, Stern-Volmer eşitliğini temsil eder. Bu doğrunun y-eksenini kestiği nokta genellikle bir' e (1) eşittir, çünkü sönümsüz floresans yoğunluğu (I_0) sönümlü floresans yoğunluğundan (I) farklıdır. Bu doğrunun eğimi ise Stern-Volmer sönümleme sabitine (K_{sv}) eşittir. Bu eğim, sönümleme sürecinin hızını ve sönümlemenin şiddetini belirleyen bir parametreyi ifade eder. Bu şekilde, I_0/I a karşı $[Q]$ grafiği ve elde edilen doğru, sönümleme verilerini analiz etmek ve sönümleme mekanizmasını karakterize etmek için önemli bir araç sağlamış olur.

2.4.1.3. Floresansı Etkileyen Faktörler

Bir molekülün floresans özelliğini etkileyen bazı yapısal ya da çevresel değişkenler vardır. Bunlar;

- **Moleküler Yapı:** Aromatik fonksiyonel gruplar içeren organik moleküller genellikle floresans gösterme eğilimindedir. Özellikle, halkalı yapıdaki bileşikler floresans özelliklerine daha yatkındır. Konjugasyon ve halka sayısı, floresans verimliliğini artırabilir. Moleküler yapının konjugasyonunun ve halka sayısının artması, floresans verimliliğinde bir artışla sonuçlanabilir. Özellikle, π - π^* geçiş olasılığı yüksek olan moleküller, floresans özelliklerinde daha belirgin bir artış sergileyebilir. π - π^* geçişlerine müsait olan moleküllerin floresans özellikleri, n - π^* geçişlerinin mümkün olduğu moleküllere göre daha yüksek olabilir. Molekül yapısına eklenen süstitüentler, molekülün floresans özelliklerini etkileyebilir. Elektron çeken grupların ($-\text{NO}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{I}$, vb.) varlığı, floresans emisyon şiddetini azaltabilirken, elektron salan grupların ($-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, vb.) varlığı floresans emisyon şiddetini artırabilir.
- **Yapısal Rijitlik:** Floresans özelliklerini etkileyen önemli faktörlerden birisidir. Aromatik moleküllerin yapısal rijitliği, floresans verimliliğini artırabilir. Rijit bir yapıya sahip olan moleküller, düşük rijitlikte olanlara göre daha yüksek floresans özelliklerine sahip olma eğilimindedir. Bununla birlikte, bazı moleküller metal iyonları ile kompleksleşerek floresans özelliklerinde artış gösterebilir. Metal iyonları ile oluşturulan şelat kompleksleri, molekülün yapısal rijitliğini artırarak floresans verimliliğini yükseltebilir. Bu nedenle, metal iyonları ile şelat oluşturan moleküller daha güçlü floresans özellikleri sergileyebilir.
- **Viskozite:** Çözücünün viskozitesi floresans kuantum verimini etkileyebilir. Yüksek viskoziteye sahip bir çözücüde, uyarılmış moleküllerin çözücü ve diğer bileşenlerle çarpışma olasılığı azalır. Bu durum, uyarılmış moleküllerin ışımasız geçişlerinin rekabetini azaltır ve floresans emisyonunu artırabilir. Sonuç olarak, yüksek viskozite floresans kuantum verimini artırabilir.

- pH: Molekölün floresans özellikleri, çözeltinin pH değerine bağı olarak değışebilir. Bazik veya asidik ortamlarda floresans şiddeti ve dalga boyu değışmektedir.
- Sıcaklık: Birçok molekülün floresans kuantum verimini etkilemektedir. Yüksek sıcaklıklarda çarpışma frekansının artması moleküllerin birbirleri ve çözücü molekülleri ile çarpışmasına dolayısıyla dış dönüşüm ile sönümlenme ihtimalini arttırmasına neden olur. Dış dönüşümün artması molekülün fazla enerjisini ışımasız yoldan kaybetmesi anlamına geldiğı için floresans kuantum verimi azalır. Yüksek sıcaklık genellikle floresans verimliliğini azaltabilmektedir.
- Oksidasyon durumu: Molekülün oksidasyon durumu floresans özelliklerini etkileyebilir. Oksidasyon genellikle floresans verimliliğini azaltırken, indirgenme floresans özelliklerini artırabilir.
- Derişim: Floresans yoğunluğu, floresans kuantum verimi ve emilen ışığın miktarının çarpımı şeklinde nicel olarak ifade edilir. Eşitlik 2.6 bu ilişkiyi göstermektedir.

$$F = \phi_F(P_0 - P) \quad (2.6)$$

Burada F, ϕ_F , P_0 ve P sırasıyla, floresans emisyon şiddeti, floresans quantum verimi, başlangıç ışınlımı ve absorbe edilen ışınlımı temsil etmektedir. Beer kanuna göre P ve P_0 arasında absorpsiyon ve derişim arasındaki ilişkiyi açıklayan bir ilişki bulunmaktadır (Eşitlik 2.7).

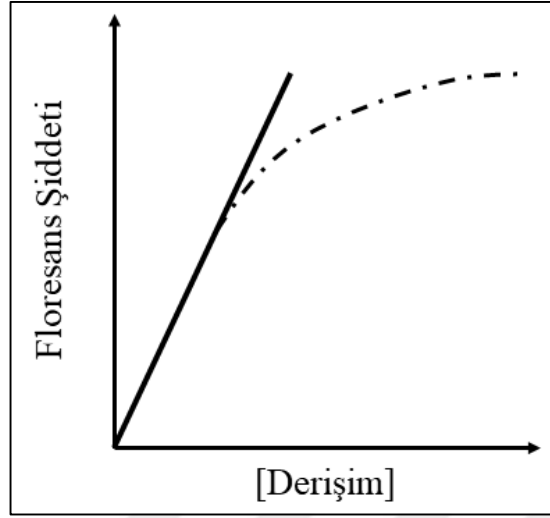
$$(P_0/P) = 10^{-\epsilon b C} \quad (2.7)$$

Bu ilişki Eşitlik 2.6'da yerine yazıldığında Eşitlik 2.8 elde edilmektedir.

$$F = \phi_F P_0 (1 - 10^{-\epsilon b C}) \quad (2.8)$$

Floresans emisyonu için, seyreltik çözeltilerde $\epsilon b C$ değeri 0.05'ten daha düşük olduğunda, floresans emisyon şiddeti ile derişim arasında Şekil 2.9' da görüldüğü gibi

doğrusal bir ilişki mevcuttur [35]. Bu doğrusal bölgenin aralığı floresans özellik gösteren molekül ve bulunduğu çevreye göre değişiklik göstermektedir.



Şekil 2.9: Floresans şiddeti ile derişim arasındaki ilişki.

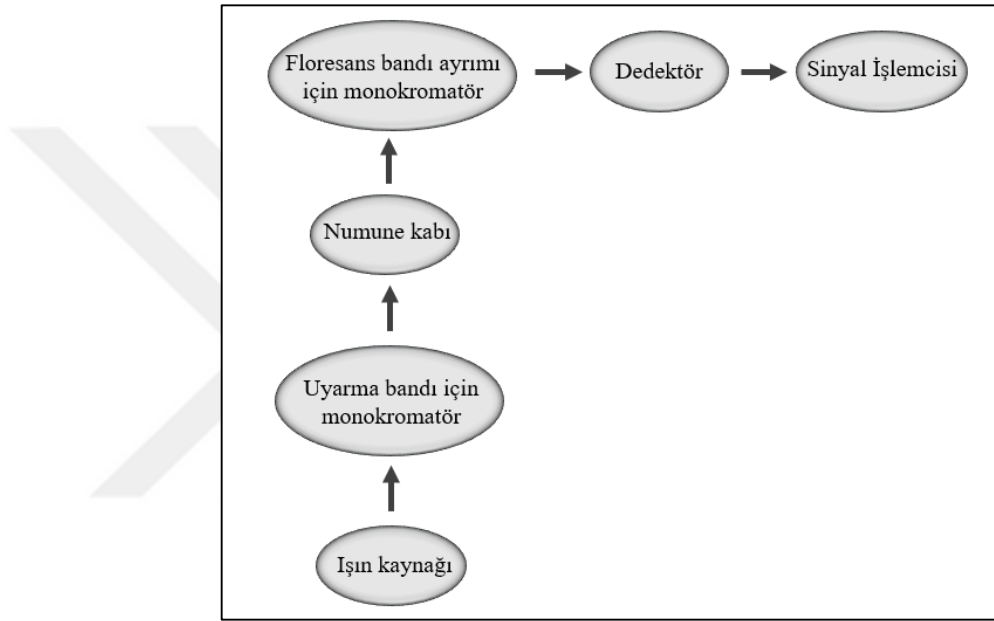
Floresans özellik gösteren bir molekülün floresans şiddetinin artan konsantrasyona göre doğrusal olarak artmamasının sebepleri arasında "öz sönümleme" ve "öz absorpsiyon" etkileri yer alır. Öz sönümleme, elektronik olarak uyarılmış moleküllerin çözeltide bulunan diğer moleküllerle çarpışması sonucunda fazla enerjisini ışımasız olarak vermesidir. Yani, uyarılmış molekül, çevredeki diğer moleküllerle etkileşime girerek enerjisini transfer eder ve floresans olarak yayılmak yerine ısı enerjisine dönüşür. Bu nedenle, yüksek derişimlerde öz sönümleme etkisi artar ve floresans şiddeti doğrusal olarak artmaz. Öz absorpsiyon ise, uyarılmış molekülün yapmış olduğu floresans emisyonunun aynı moleküller tarafından tekrar absorplanmasıdır. Yani, uyarılmış molekül floresansla enerjisini yaydıktan sonra aynı molekül veya çevrede bulunan diğer moleküller tarafından emilerek yeniden uyarılabilir. Bu durumda, floresans şiddeti, derişimin artmasıyla birlikte tekrar absorpsiyon artışı nedeniyle doğrusal olarak artmaz.

Derişimin artmasıyla birlikte öz sönümleme ve öz absorpsiyon etkileri daha da önemli hale gelir. Yüksek derişimlerde, moleküller arasındaki etkileşimlerin ve çarpışmaların sayısı artar, bu da öz sönümleme ve öz absorpsiyon olaylarının gerçekleşme olasılığını artırır. Sonuç olarak, floresans şiddeti artan konsantrasyona göre doğrusal olarak artmak yerine doygunluk noktasına ulaşır veya hatta azalır. Bu

nedenle, doğrusal derişim aralığı sınırlıdır ve yüksek konsantrasyonlarda floresans özellikleri istikrarını kaybedebilir.

2.4.1.4. Spektroflorimetrenin Temel Bileşenleri

Spektroflorimetre, maddelerin floresans özelliklerini incelemek için kullanılan bir analitik cihazdır. Floresans ölçümü için kullanılan bir cihazın temel bileşenleri şematik olarak Şekil 2.10’da gösterilmiştir.



Şekil 2.10: Bir spektroflorimetrenin bileşenlerinin şematik gösterimi.

- Işın Kaynağı: Spektroflorimetrelerde genellikle cihazın arkasında bulunan bir lamba veya lazer gibi bir ışık kaynağı bulunur. Bu ışık kaynağı, örneğin üzerine düşerek uyarılan maddelerin floresans ışınlarını üretir. Lamba veya lazer tipi ışık kaynakları kullanılabilir.
- Monokromatör: Floresans ışınların spektral bileşenlerini ayırmak için kullanılan bir bileşendir. Işık kaynağından gelen floresans ışınlar, monokromatör tarafından farklı dalga boylarına ayrılır. Böylece, floresans özelliklerinin spektral dağılımı analiz edilebilir. Monokromatör, prizma veya gratings gibi optik elemanlardan oluşabilir.

- Dedektör: Monokromatör tarafından ayrıştırılan floresans ışınları algılamak ve bunları elektriksel sinyallere dönüştürmek için kullanılır. Bu dedektörler genellikle fotomultiplier tüpleri (PMT) veya fotodiyotlar gibi fotoelektrik sensörlerdir. Dedektör, farklı dalga boylarındaki floresans sinyallerini algılayarak analiz için gerekli verileri sağlar.
- Sinyal İşlemcisi: Dedektörden gelen sinyalleri belirli yazılımlardan faydalanarak anlamlı bir spektruma dönüştürmek için kullanılır.

Bu temel bileşenlerin yanı sıra, spektrofiorimetrelerde kullanılan numune kapları, çalışılacak bölgeye ve kullanılan cihaza bağlı olarak değişebilir. Morötesi (UV) ışımaya çalışırken, özellikle 190 nm'ye kadar olan dalga boylarında kullanılan numune kapları genellikle kuvarz hücrelerdir. Kuvarz hücreler, dört tarafı optik olarak geçirgen olan ve UV ışınlarını yansıtmayan özel bir kuvarz camdan yapılmıştır. Bu cam, genellikle ışık yolunun 1 cm olduğu standart bir genişliğe sahip olarak tasarlanır. 1 cm'lik genişlik, spektrofotometrik ve spektrofiorimetrik ölçümlerde yaygın olarak kullanılan bir örnekleme yoludur. Ancak, spektrofiorimetrelerin tasarımı ve kullanım amacına bağlı olarak, farklı numune kapları da kullanılabilir. Örneğin, kuvarz hücreler yerine plastik veya cam hücreler kullanılabilir. Bu tür numune kapları, farklı dalga boylarında çalışan spektrofiorimetrelerde tercih edilebilir. Görünür bölgede çalışan spektrofiorimetrelerde cam hücreler yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.4.2. Moleküler Floresans Spektroskopisinin Uygulama Alanları

Moleküler floresans spektroskopisi birçok farklı uygulama alanında kullanılmaktadır. Nükleer araştırmalarda uranyum tuzlarının belirlenmesinde, belirli floresans özelliklere sahip kompleksler oluşturabilen inorganik iyonların tayininde, vitamin B1 (tiamin) ve B2 (riboflavin) gibi bileşiklerin belirlenmesinde, çevresel su veya toprak örneklerindeki kirleticilerin, biyolojik örneklerdeki metabolitlerin veya ilaçlar gibi bileşenlerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca, floresans spektroskopisi, DNA dizilemede de yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. DNA dizileme işlemi sırasında, DNA'nın baz dizilimi belirlenir. Bu süreçte, DNA'nın bazlarına özgü floresans etiketli nükleotidler kullanılır. Floresans etiketli nükleotidler, DNA sentezi sırasında inkorpore edilir ve her bir bazın floresans özelliklerini taşır.

Daha sonra, floresans spektroskopisi kullanılarak DNA'nın dizilimi analiz edilir. Biyolojik sistemlerde bileşik bağlanmasını ve etkileşimlerini incelemek için de floresans spektroskopisi kullanılmaktadır. Örneğin, bir bileşiğin bir protein veya enzimle etkileşimi incelenirken, bileşik genellikle floresan etiketlenir. Bileşiğin floresans özellikleri, bağlama olayı gerçekleştiğinde veya protein ile etkileşime girdiğinde değişir. Bu değişiklikler, floresans spektroskopisi kullanılarak izlenebilir ve bağlanma olayının doğasını, bağlama affinitesini ve mekanizmasını belirlemeye yardımcı olur. Floresans etiketli antikolar veya floresans etiketli bağlayıcı moleküller kullanılarak immüno testlerde de floresans spektroskopisi kullanılmaktadır. Bu yöntem, biyolojik sistemlerde belirli proteinlerin veya moleküllerin varlığını tespit etmek veya miktarını ölçmek için kullanılır. Floresans etiketli bağlayıcı moleküller, hedef analiti ile spesifik olarak etkileşime girer ve bu etkileşim floresans sinyali üretir. Bu sinyal, floresans spektroskopisi kullanılarak tespit edilebilir ve analitin varlığı veya miktarı hakkında bilgi verir.

Floresans spektroskopisi, kolorimetrik veya spektrofotometrik yöntemlerle düşük konsantrasyonlardaki çözeltilerin tayin edilemediği durumlarda da kullanılabilen bir analitik yöntemdir. Kolorimetri veya spektrofotometri, çözeltilerin absorpsiyon özelliklerine dayanırken, floresans spektroskopisi, bir maddenin ışığı absorbe etmesi ve daha yüksek enerjili bir ışık yayması prensibine dayanır. Floresans yöntemi, çözeltideki bileşiklerin floresans özelliklerini kullanarak çok düşük konsantrasyonlardaki analitleri tespit etme yeteneğine sahiptir. Floresans bileşikler, belirli dalga boylarında emisyon yaparlar ve bu emisyon spektrumu genellikle dar bir bantta yoğunlaşır. Bu, arka plan gürültüsünden kaynaklanan etkileri en aza indirerek düşük konsantrasyondaki analitlerin tespitini kolaylaştırır.

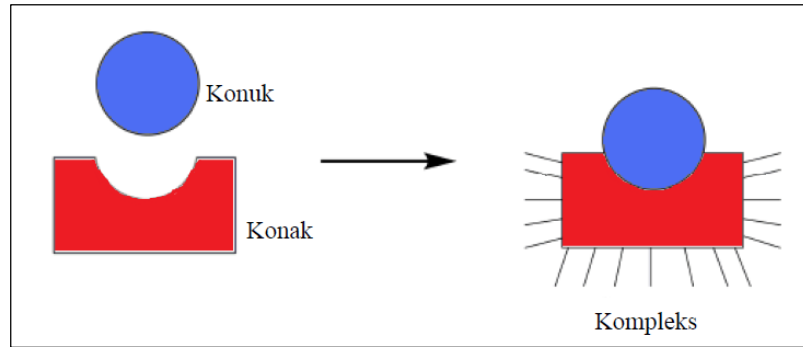
Spektroflorimetre, kromatografi (özellikle HPLC) ve elektroforez cihazlarına dedektör olarak entegre edilerek çeşitli uygulama alanlarında kolaylık sağlar. Maddelerin floresans analizleri, floresans gösteren bir maddenin yaydığı ışığın dalga boyunun maddeye özgü olmasından dolayı, maddelerin kalitatif analizini mümkün kılar. Kantitatif analizler ise belirli bir konsantrasyon aralığında floresans şiddeti ile konsantrasyon arasındaki doğrusal ilişkiden yararlanılarak gerçekleştirilir. Kolorimetrik veya spektrofotometrik yöntemlerle tespit edilemeyen çok düşük konsantrasyondaki çözeltiler (10^{-4} - 10^{-9} M), floresans yöntemiyle tayin edilebilir. Sıvı halindeki çözeltilerde, sınırlı sayıda floresans gösteren anorganik iyon bulunur. Bunların arasında en tanınmış olanı uranil iyonudur. Ayrıca, Cr^{+3} , Ce^{+3} ve Tl^{+} iyonları

da floresans özellik gösterir. Bazı aromatik yapıdaki maddelerle şelat oluşturan birçok anorganik iyon, güçlü floresans yayıcı bileşikler oluşturur. Bu sayede, birçok elementin hassas bir şekilde tayini mümkün hale gelir.

2.5. Moleküler Sensörler

Moleküler sensörler, belirli bir hedef analiti veya olayı tespit etmek için tasarlanmış moleküler düzeyde algılama sistemleridir. Bu sensörler, hedef analit veya olayla etkileşime giren ve bu etkileşimin sonucunda bir sinyal üreten özgün tanıma elemanlarından oluşur.

Sensör molekülü, analit ile etkileştiğinde spektroskopik özelliklerinde değişiklikler meydana gelebilir. Örneğin, bir floresans sensör molekülü, analit ile etkileştiğinde floresans özelliği azalabilir, kaybolabilir veya artabilir. Bu değişimlerin incelenmesiyle analitin tayini yapılabilir. Bu nedenle, moleküler sensörlerde ev sahibi-konuk etkileşimi önemlidir. Sensör molekülü, analit ile özgün etkileşimleri sayesinde belirli bir analiti tespit etme yeteneğine sahip olabilir. Bu şekilde moleküler sensörler, analitlerin seçici ve duyarlı tespitinde kullanılabilir (Şekil 2.11) [41].



Şekil 2.11: Konak - konuk etkileşimi ile moleküler sensör gösterimi.

Bir reseptör, konunun varlığını algılayan ve bunu bildiren bir sensör olarak kullanılabilir. Özellikle seçici reseptörler, belirli bir konuyu tanıyabilir ve onun varlığını diğer moleküllerden ayırt edebilir. Bu, sensörün doğruluğunu ve güvenilirliğini artırır. Bir reseptör tabanlı sensör aynı zamanda konunun konsantrasyonunu izleyebilir. Sensör, konunun belirli bir konsantrasyon aralığında bulunup bulunmadığını tespit edebilir ve bu bilgiyi kullanıcıya iletebilir. Tıbbi uygulamalarda, örneğin bir ilacın etkisinin izlenmesi veya bir hastanın metabolik

durumunun takibi için bu tür sensörlere ihtiyaç duyulabilir. Çevresel açıdan, sensörler çevresel kirlilik seviyelerini izlemek için de kullanılabilir. Örneğin, hava kalitesini izlemek için bir sensör kullanılabilir ve belirli kirlleticilerin konsantrasyonunu tespit edebilir. Bu tür sensörler, çevre sağlığı ve güvenliği açısından önemli bilgiler sağlar.

Moleküler sensörler analitik tayinde büyük öneme sahiptirler. Bu sensörler, analiz yapmak için büyük miktarlarda numune gerektiren ve maliyetli olan diğer yöntemlere kıyasla avantajlar sunarlar. Elektrokimyasal ve optik sensörler, moleküler sensörlerin iki ana sınıfını oluşturur.

Elektrokimyasal sensörler, redoks aktif birimin reseptöre bağlanması yoluyla elde edilir. Bu sensörlerde, reseptörün yükseltgenme-indirgenme özellikleri, sıklık voltametri gibi elektrokimyasal tekniklerle belirlenebilir. Elektrokimyasal sensörler, çeşitli analitlerin tayininde kullanılabilir ve düşük miktarda numuneyi hızlı bir şekilde analiz etme yetenekleri vardır.

Optik sensörlerin en yaygın tipi ise floresans sensörlerdir. Floresans tayini, diğer ışık kaynaklı tayin yöntemlerine kıyasla yüksek duyarlılık, hız ve güvenlik gibi avantajlar sunar. Floresans sensörler, analit molekülüyle etkileşime girerek floresans sinyalde değişikliklere neden olurlar ve bu değişiklikler ölçülerek analit tayini yapılır. Yüksek duyarlılıkları sayesinde moleküler sensörler, biyolojik sistemlerde kullanılmak için uygundur. Floresans sensörler, güvenli bir şekilde kullanılabilmesi ve numuneleri etkilemeden veya zarar vermeden çalışabilmesi nedeniyle avantajlıdır. Bu özellikleri sayesinde, çevresel ve biyomedikal uygulamalarda önemli bir rol oynarlar. Ayrıca, floresans sensörler genellikle küçük ve taşınabilir cihazlara entegre edilebilir, bu da saha çalışmalarında veya yerinde analizlerde kullanılmalarını kolaylaştırır.

Moleküler sensörlerin genel olarak yüksek seçicilik, hassasiyet ve hız gibi avantajları bulunur ve analitik tayinlerde önemli bir rol oynarlar. Bu nedenle, çeşitli uygulama alanlarında kullanılmaları yaygındır.

2.5.1. Optik Sensörler

Optik sensörler, elektromanyetik ışınımı kullanarak analitik sinyal üretmek için bir dönüştürücü kullanan kimyasal sensörleri temsil eder. Numune ile ışının

etkileşimi, belirli bir optik parametrenin değişmesiyle değerlendirilir ve bu değişim analitin konsantrasyonuyla ilişkilidir.

Optik sensörler, bir dönüştürücü yardımıyla analitik sinyal üretmek için elektromanyetik ışımanın kullanıldığı kimyasal sensörleri temsil eder. Bu ışımanın numune ile etkileşimi, belirli bir optik parametrenin değişmesi ile değerlendirilir ve bu değişim analitin konsantrasyonu ile ilgilidir. Optik kimyasal sensörler genellikle bir dönüştürücü ve onunla birleştirilmiş bir kimyasal tanıma elemanı (iyonofor veya reseptör) içerir. Bu reseptör, analitin konsantrasyonu, pH değeri vb. gibi bir parametreyi tanımlar ve bu parametrenin büyüklüğüyle orantılı olarak optik bir sinyal değişimi sağlar. Reseptörün optik sensördeki işlevi, analit molekülleriyle etkileşime girmek veya seçici bir reaksiyon gerçekleştirmektir. Dönüştürücü, reseptör tarafından üretilen optik sinyali arttırma, filtreleme, kaydetme, görüntüleme vb. işlemlerle ölçülebilir bir sinyale dönüştürür [43], [44].

Optik sensörler, farklı elektromanyetik spektrum bölgelerini (UV, Görünür, IR, NIR) içeren ve ışığın yoğunluğunun yanı sıra ışıma süresi, kırılma indisi, saçılma, kırınım ve polarizasyon gibi diğer optik özelliklerin ölçülmesini sağlayan çeşitli optik prensiplere (absorbans, yansıma, lüminesans, floresans vb.) dayanan cihazlardır [45]. Farklı optik prensiplere dayanan sensörler aşağıda açıklanmıştır:

- **Absorbans Temelli Sensörler:** Analiz ortamına gönderilen ışığın analit tarafından soğurulmasıyla ilgili sinyal değişikliklerini ölçen optik sensörlerdir. Analiz ortamı içindeki analit molekülleri, belirli bir dalga boyundaki ışığı soğurarak enerjiyi emer. Bu emilim, analitin konsantrasyonuyla orantılıdır. Sensörde kullanılan bir detektör, ışığın geçtiği ortamdaki emilimi ölçer ve bu sayede analitin varlığını veya konsantrasyonunu tespit edebilir.
- **Yansıma Temelli Sensörler:** Saydam olmayan bir yüzeyden yansıyan ışığın ölçülerek analitik bilgi elde edildiği optik sensörlerdir. Bu sensörlerde, analitik bir reaksiyon veya etkileşim sonucunda yüzeyde meydana gelen değişiklikler, yansıma özelliği üzerinde etkili olur. Bu değişiklikler yansıyan ışığın yoğunluğunda veya dalga boyunda farklılıklara neden olur. Sensördeki bir dedektör, yansıyan ışığı algılayarak analitik bilgiyi elde eder. Yansıma temelli sensörler genellikle yüzey plazmon rezonansı gibi optik fenomenlere dayanır ve yüzey üzerindeki etkileşimlerin yansımadaki değişiklikleriyle çalışır.

- **Kırılma Temelli Sensörler:** Çözelti bileşiminde meydana gelen değişikliklerin sonucunda kırılma indisinin ölçüldüğü optik sensörlerdir. Bir optik malzeme içinde yayılan ışık, kırılma indisi olarak adlandırılan bir optik parametreye bağlı olarak yön değiştirir. Sensörde kullanılan bir dönüştürücü, analit veya çözelti içindeki değişikliği algılayarak kırılma indisi üzerindeki değişikliği ölçer. Bu değişiklik, analitin varlığını veya konsantrasyonunu belirlemek için kullanılır. Kırılma temelli sensörler, biyomedikal, gıda endüstrisi, kimyasal analiz ve çevresel izleme gibi çeşitli uygulamalarda kullanılır.
- **Opto-termal Temelli Sensörler:** Işığın soğurmasının neden olduğu termal etkinin ölçüldüğü optik sensörlerdir. Bir analit veya çözelti, optik bir enerjiyi absorbe ettiğinde, termal bir etki meydana gelir. Bu termal etki, ortamın sıcaklığında bir değişiklik olarak görülebilir. Sensörde kullanılan bir dönüştürücü, ortamdaki termal değişikliği algılayarak analitik bilgiyi elde eder. Opto-termal sensörler, biyomedikal teşhis, malzeme karakterizasyonu ve enerji transferi gibi alanlarda kullanılır. Özellikle biyomedikal alanda, hücrelerin veya biyomoleküllerin optik soğurma özelliklerine dayanan termal değişikliklerin tespiti için yaygın olarak kullanılırlar.
- **Işık Saçılımı Temelli Sensörler:** Numunede mevcut olan belli büyüklükteki partiküllerin neden olduğu ışık etkileşimlerinden yola çıkarak ışık saçılımının ölçüldüğü optik sensörlerdir. Sensörde kullanılan bir dedektör, saçılan ışığı algılayarak analitik bilgiyi elde eder. Numunedeki partiküller, ışıkla etkileşime girerek saçılma fenomenine neden olurlar. Saçılan ışığın yoğunluğu, analit veya numunedeki özelliklere bağlı olarak değişir. Işık saçılımı temelli sensörler, partikül analizi, çevresel kirlilik izleme, tıbbi teşhis ve malzeme karakterizasyonu gibi birçok alanda kullanılır.
- **Lüminesans Temelli Sensörler:** Bir uyarma veya alıcı sistemdeki kimyasal bir reaksiyon sonucunda yayılan ışığın şiddetinin ölçüldüğü optik sensörlerdir. Bu sensörler, floresans ve fosforesans olmak üzere iki alt gruba ayrılabilir. Floresans sensörleri, analit veya numuneyle etkileşime giren bir uyarma kaynağı tarafından uyarılan ve daha yüksek enerjili ışık yayarak geri dönen floresans ışığın yoğunluğunu ölçer. Fosforesans sensörleri ise uyarma kaynağından ayrıldıktan sonra belirli bir süre boyunca yayılan ışığın yoğunluğunu ölçer. Lüminesans temelli sensörler, moleküler analiz, biyokimya, biyomedikal teşhis ve

biyoteknoloji gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılır. Bu sensörlerin avantajları arasında yüksek duyarlılık, seçicilik ve hızlı tepki süresi bulunmaktadır.

2.5.2. Floresans Sensörler

Floresans sensörler, bir analit veya hedef molekülün varlığını belirlemek veya ölçmek için floresans özelliğini kullanan optik sensörlerdir. Bu sensörler, bir analit ile etkileşime girdiğinde uyarma kaynağı tarafından uyarılan ve daha yüksek enerjili ışık yayarak geri dönen floresan ışığın özelliklerini ölçer. Analit ile etkileşim sonucunda floresans ışığın yoğunluğu, dalga boyu, ömrü veya spektral özellikleri gibi değişiklikler gösterebilir.

Tayini önemli olan metal iyonlarının algılanmasında indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP-MS), atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS), indüktif olarak eşleşmiş atomik emisyon spektrometrisi (ICP-AES) gibi cihazlar kullanılmaktadır. Bu cihazlar yüksek hassasiyete sahip olsalar da yüksek maliyetli olmalarının yanı sıra, karmaşık ve zaman alıcı numune hazırlama süreçleri gibi dezavantajları, floresans sinyal değişimine dayanan algılama yöntemlerine olan ilgiyi artırmıştır. Floresans tabanlı bu sensörler, yüksek hassasiyet, seçicilik, kısa ve gerçek zamanlı analiz süresi gibi avantajlar sağlamaktadır.

İdeal bir floresans sensör üç temel özelliğe sahip olmalıdır. Bunlar:

- **Bağlanma seçiciliği:** Floresans sensörde kullanılan iyonofor veya reseptör, hedef analit molekülüne karşı yüksek bir bağlanma seçiciliğine sahip olmalıdır. Bu, sensörün sadece hedef analit ile etkileşim kurmasını ve diğer bileşenlerden etkilenmemesini sağlar.
- **Sinyal seçiciliği:** Floresans sinyali, çevresel faktörlerden (örneğin çözücü ortamı, pH değeri) etkilenmemeli ve sadece analitin varlığına yanıt vermelidir. Bu, sensörün yüksek sinyal seçiciliği sağlayarak analit konsantrasyonunu doğru bir şekilde belirlemesini sağlar.
- **Foto-kararlılık:** Floresans sensörün yapısı, ışığın varlığında bozulma veya değişikliğe uğramamalıdır. Foto-kararlılık, sensörün uzun süreli ve tekrarlanabilir

ölçümler yapılabilmesi için önemlidir. Floresans sensörün kimyasal yapısının ışığa maruz kalma sonucu bozulmadan kalması gerekmektedir.

Bu temel gereksinimler, floresans sensörlerin başarılı bir şekilde analit tayini yapılabilmesi, seçicilik sağlayabilmesi ve güvenilir sonuçlar üretebilmesi için önemlidir.

Kasyon bağlayıcı floresans sensörleri ışığa dayalı işlemlerin yapısına göre ışına dayalı elektron transferi (PET), ışına dayalı yük transferi (PCT) şeklinde sınıflandırabiliriz [46].

2.5.2.1. PET Sensörler

PET (Işına Dayalı Elektron Transferi) mekanizması genellikle donör atomlar ile uyarılmış haldeki floroforun HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital - En Yüksek Dolu Moleküler Orbital) enerji seviyesi arasında gerçekleşir. Bu mekanizmada, donör atomlar (N, O, S gibi atomlar), eşleşmemiş elektron çifti içerir. Uyarılmış haldeki florofor molekülünün HOMO enerji seviyesi, donör atomlarının enerji seviyeleriyle uyumlu olmalıdır. Bu durumda, donör atomlar uyarılmış florofor'un enerjisinin bir kısmını alarak elektron transferi gerçekleştirir. Elektron transferi sonucunda, florofor'un floresans özelliği etkilenir. Donör atomların varlığı, elektron transferiyle floresans sönümlemesine veya uyarılmış florofor molekülünün enerji seviyesinin değişmesine neden olabilir. Bu durumda, floresans sinyalinde bir azalma veya değişiklik gözlemlenebilir.

PET mekanizması, floresans sensörlerin tasarımında kullanılarak analitlerin tespitinde ve ölçümünde yarar sağlar. Donör atomlarının ve florofor'un HOMO enerji seviyesinin uyumu, elektron transferinin etkinliğini ve floresans sinyalindeki değişikliği belirler. Bu sayede, PET sensörleri seçicilik, duyarlılık ve analit tespiti konusunda avantaj sağlar.

2.5.2.2. PCT Sensörler

PCT mekanizmasında, floresans sensörün verici kısmı (donör) ve alıcı kısmı (akseptör) bulunur. Donör molekülü, uyarıldığında elektron yükünü taşıyan bir enerji seviyesine ulaşır. Akseptör molekülü ise, donör molekülüyle elektron yükü transferi yapabilecek bir enerji seviyesine sahiptir. Işına Dayalı Yük Transferi (PCT) sensörleri,

genellikle tamamen π -konjuge sistemlere sahip moleküller içerir ve bu sistemlerde kısmi yük aktarımı gerçekleşir. π -konjuge sistemler, ardışık olarak bağlı çift veya tek bağlı alternatif bağlara sahip moleküllerdir.

PCT mekanizmasında, π -konjuge sistemin içinde yer alan bir donör molekül (genellikle bir aromatik halka) uyarıldığında, elektron yükü bu sisteme yayılır. Ardından, elektron yükü, π -konjuge sistemdeki alıcı moleküle (genellikle bir başka aromatik halka veya konjuge grup) transfer edilir.

Bu kısmi yük transferi, donör ve alıcı moleküller arasında elektron yoğunluğunun değişimine ve dolayısıyla floresans sinyalin değişmesine neden olur. Donör molekülün uyarılmış hali floresans gösterirken, alıcı molekül elektron yükünü alır ve floresans sinyali kısmen sönümlenir veya değişir.

PCT sensörlerinde PET sensörlerinde gerçekleşen elektron transferinin yanı sıra katyon bağlanması da meydana gelir. PCT sensörlerde, uyarılmış florofofor molekülü, bir katyonla etkileşime girer. Bu etkileşim sonucunda floresans spektrumunda kaymalar meydana gelir. Floresans spektrumunda görülen kayma, katyonun etkisiyle molekülün enerji seviyelerinin değişmesinden kaynaklanır.

Bu şekilde, PCT sensörlerde katyon bağlanması, PET sensörlerden temel bir fark olarak ortaya çıkar [47]. Katyon bağlanması, floresans spektrumunda gözlemlenebilir bir kaymaya neden olur ve bu kayma, analitin varlığının belirlenmesinde kullanılabilir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. Yapılan Çalışmalar

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Tablo 3.1: Tez kapsamında kullanılan cihazlar.

Adı	Modeli	Bulunduğu Yer
Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektrometresi	Varian 500 MHz	GTU
Kütle Spektrometresi	Bruker Microflex LT MALDI-TOF MS	GTU
UV-Visible (UV-Vis) Spektrofotometresi	Schimadzu 2001 UV Pc	GTU
Floresans Spektrofotometresi	Varian Cary Eclipse	GTU
Zaman Çözümlemeli ve Temel Hal Floresans Spektrometresi	Horiba-Fluorolog-3	GTU

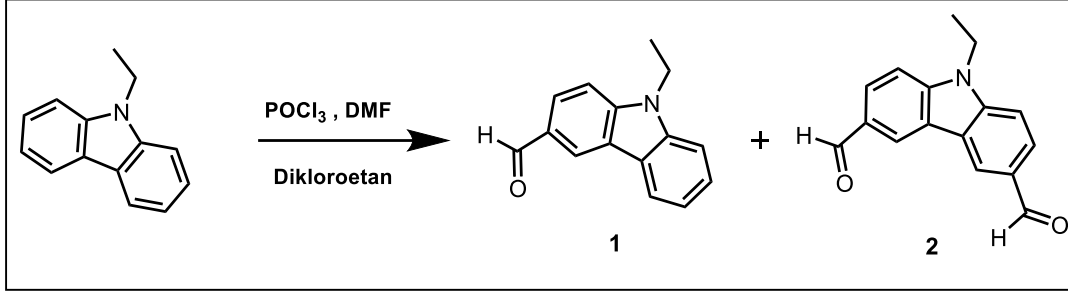
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Absorpsiyon ve floresans ölçümleri için spektroskopik saflıkta organik çözücüler ticari olarak satın alındı. Bu çözücüler; tetrahidrofur (THF), aseton, diklorometan (DCM), 1,4-dioksan, dimetilformamid (DMF), etilasetat (EA) ve dimetilsülfoksit (DMSO)'dir.

Deiyonize su içerisinde hazırlanan metal çözeltileri için $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NiCl_2 , CuCl_2 , AlCl_3 , KCl , NaCl , CaCl_2 , HgCl_2 , MnCl_2 , AgNO_3 , BaCl_2 , LiCl , CsNO_3 , SeCl_2 kullanılırken asit çözeltisi olarak 0.1 M HCl (aq), baz çözeltisi olarak 0.1 M NaOH (aq) analitik saflıkta ticari olarak temin edildi. Geri kazanım çalışmaları için ise etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) analitik saflıkta ticari olarak temin edildi.

3.3. Bileşiklerin Sentezi ve Yapı Karakterizasyonları

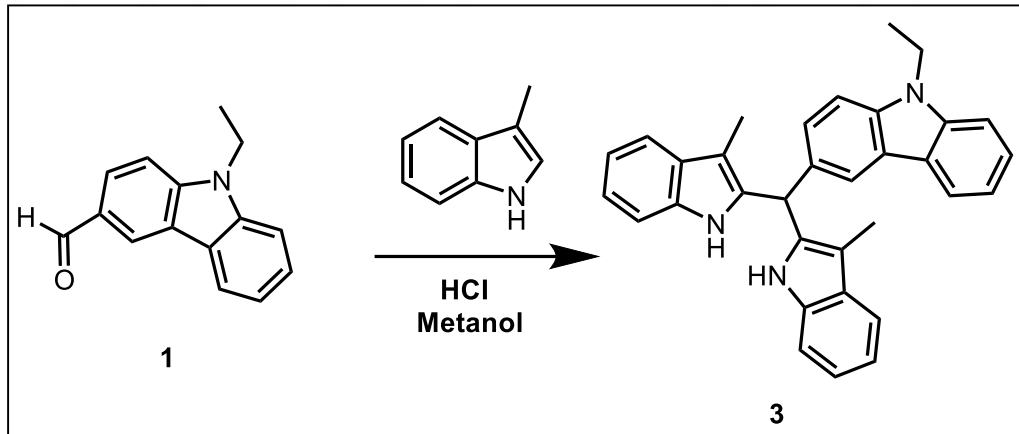
3.3.1. 1 ve 2 Bileşiklerinin Sentezi



Şekil 3.1: 3-aldehit ve 3,6-dialdehit karbazol bileşiklerinin (1 ve 2) elde edilmesi.

N-etilkarbazol Vilsmeier-Haack formilasyonu yöntemi ile formillenerek karbazol-3-karbaldehit **1** ve karbazol-3,6-dikarbaldehit **2** bileşikleri literatüre göre sentezlenmiştir [48].

3.3.2. 3 Bileşiğinin Sentezi

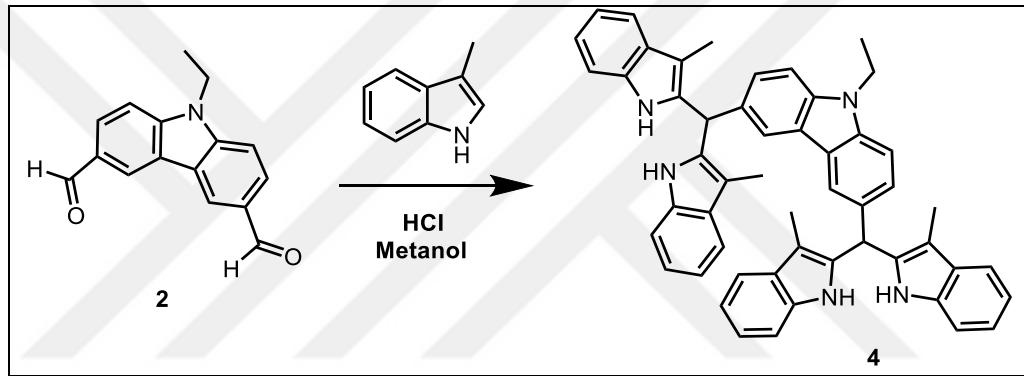


Şekil 3.2: Karbazol köprülü ikili indol bileşiğinin (3) sentezi.

1 Bileşiği (100 mg, 0.45 mmol) ve metanol (3.0 mL) 25 mL 'lik yuvarlak dipli reaksiyon balonuna alındı ve **1** bileşiği çözününceye kadar yağ banyosu ile ısıtıldı. Bu reaksiyon karışımına daha sonra sırasıyla 3-metilindol (118 mg, 0.90 mmol) ve %37'lik sulu HCl çözeltisi (40 μL , 0.50 mmol) damla damla eklendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 20 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyondan alınan örneklerin

TLC (Etilasetat:n-hekzan (1:1 (v/v)) ile takip edilmesi ile 1 bileşiğinin kalmadığı ve ürün oluşumunun gerçekleştiği görüldü. Final reaksiyon karışımına kloroform (50 mL) ilave edilerek organik faz, su (50 mL) ile dört kez yıkanarak ekstrakt edildi. Daha sonra organik faz Na_2SO_4 ile kurutulup çözücü, döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Elde edilen ham karışım yürütücü faz olarak DCM' in kullanıldığı silikajel dolgulu kolondan geçirildi ve 3 bileşiği (109 mg, %52) saf olarak izole edildi. 3 Bileşiğinin yapısı standart spektroskopik yöntemler ile (Kütle, ^1H , ^{13}C NMR) aydınlatılmıştır. (Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3) (Bölüm 4.1.1).

3.3.3. 4 Bileşiğinin Sentezi



Şekil 3.3: Karbazol köprülü dörtlü indol bileşiğinin (4) sentezi.

2 Bileşiği (100 mg, 0.398 mmol), metanol (4.0 mL) ve THF (0.4 mL) ile 25 mL 'lik yuvarlak dipli reaksiyon balonuna alındı ve 2 bileşiği çözününceye kadar yağ banyosu ile ısıtıldı. Bu reaksiyon karışımına daha sonra sırasıyla 3-metilindol (214 mg, 1.63 mmol) ve %37'lik sulu HCl çözeltisi (70 μL , 0.88 mmol) yavaşça damla damla eklenip reaksiyon karışımının önce yeşil/mavi rengine daha sonra da mavi renge döndüğü gözlemlendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 20 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyondan alınan örneklerin TLC (Etilasetat:Hekzan (1:1)) ile takip edilmesi ile 2 bileşiğinin kalmadığı ve ürün oluşumunun gerçekleştiği görüldü. Reaksiyon karışımına kloroform (50 mL) ilave edilerek, organik faz su (50 mL) ile dört kez yıkanıp ekstrakt edildi. Daha sonra organik faz Na_2SO_4 ile kurutulup çözücü, döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. Elde edilen ham karışım yürütücü faz olarak DCM' in kullanıldığı silikajel dolgulu kolondan geçirildi ve 4 bileşiği (87 mg, %29)

saf olarak izole edildi. 4 Bileşiğinin yapısı standart spektroskopik yöntemler ile (Kütle, NMR) aydınlatılmıştır. (Şekil 4.4, 4.5 ve 4.6) (Bölüm 4.1.2).

3.4. Bileşiklerin Sensör Özelliklerinin İncelenmesi

3.4.1. Metal Çözeltilerinin Hazırlanması

Spektrofotometrik ve spektrofotometrik ölçümler için, metal tuzlarından (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} , K^{+} , Na^{+} , Ca^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Ag^{+} , Ba^{2+} , Li^{+} , Cs^{+} , Sr^{2+}) gerekli tartımlar alınarak 0.1 M ve 0.01 M metal çözeltileri deiyonize su kullanılarak analiz öncesinde taze olarak hazırlanmıştır.

3.4.2. Bileşik Çözeltilerinin Hazırlanması

Karbazol köprülü ikili indol (3) ve karbazol köprülü dörtlü indol (4) bileşiklerinin ana stok ve ara stok çözeltileri DMSO ile hazırlandı. 3 ve 4 Bileşiklerinin (1mg) DMSO (10mL) içerisinde çözünmesiyle ana stok çözeltileri hazırlandı. DMSO ile ana stok çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 1×10^{-6} M 'lık çalışma çözeltileri hazırlandı.

3.4.3. Uyarma Dalga Boyunun Belirlenmesi

Her iki bileşiğin 250-700 nm dalga boyu aralığında UV-Vis absorpsiyon spektrumları kaydedildi. Elde edilen absorpsiyon spektrumlarına göre her iki bileşik için 290 nm uyarma dalga boyu olarak belirlendi.

3.4.4. Bileşik Çözücüsünün Tespiti

Bileşiklerin THF, aseton, DCM, 1,4-dioksan, DMF, EA ve DMSO çözücülerinde absorpsiyon spektrumları UV-Vis spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir (Şekil 4.8). Her bir numune 290 nm dalga boyunda uyarılarak emisyon spektrumları ölçülmüştür (Şekil 4.9). Bunlara ek olarak floresans ölçümü yapılırken suyun etkisini görmek için her bir çözücüdeki bileşiklere 100 μL su ekleyip floresans ölçümleri alınmıştır (Şekil 4.9).

3.4.5. Bileşik Konsantrasyonunun Tespiti

3 ve 4 Bileşiklerinden 1 mg tartılarak 10 mL DMSO içerisinde çözünerek hazırlanan ana stok çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 1×10^{-6} M çalışma çözeltileri hazırlanmıştır (Şekil 4.10).

3.4.6. Bileşiklerin Emisyon Spektrumlarına Metal İyonların Etkisinin Tespiti

Spektroflorimetrik çalışmalarda sabit bileşik konsantrasyonunda, aşırı miktardaki iyon konsantrasyonunun bileşik çözeltisinin floresans spektrumuna etkisini incelemek için şu şekilde bir çalışma yapılmıştır: 1×10^{-6} M bileşik çözeltisine 0.1 mL metal, asit ve baz (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{+2} , Al^{+3} , K^{+1} , Na^{+1} , Ca^{+2} , Hg^{+2} , Mn^{+2} , Ag^{+1} , Ba^{+2} , Li^{+1} , Cs^{+1} , Sr^{+2} ve HCl, NaOH) çözeltisinden ayrı ayrı ve karışımları şeklinde eklenerek floresans spektrumları incelenmiştir.

3.4.7. Spektroflorimetrik Titrasyonlar

Bu çalışmada sabit konsantrasyonda bileşik çözeltisi üzerine artan miktarlarda metal iyonları eklenmiştir. Bunun için bileşiklerin DMSO içerisinde 1×10^{-6} M'lık çözeltileri, Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarının ise deiyonize su içerisinde 0.01 M'lık çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu metal iyonları artan konsantrasyonlarda ayrı ayrı bileşik çözeltilerine eklenerek kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur.

3.4.8. Kompleks Bileşenlerinin Belirlenmesi

Bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} metalleri ile oluşturduğu komplekslerin stokiyometrisi Job's metodu kullanılarak belirlendi. Tablo 3.2'de görüldüğü gibi bu oranı tespit edebilmek için metal ve bileşiklerin konsantrasyonları aynı olacak şekilde 1×10^{-6} M olarak hazırlandı. Ölçümler alınırken bileşik konsantrasyonu azalırken metal konsantrasyonunun arttığı bir seri çözelti hazırlandı ve bu çözeltiler uygun dalga boyunda floresans spektrometresinde uyarılarak spektrumlar kaydedildi. Bu veriler ışığında, $I - I_0 \times (1 - X)$ karşılık gelen mol kesri grafiğe geçirildi. Grafiğin dönüm noktasına karşılık gelen mol fraksiyonundan (x) elde edilen değer $n = \frac{x}{1-x}$

formülünde yerine konularak hedef metal iyonu ile bileşikler arasındaki stokiyometri hesaplanmıştır.

I : Bileşik+Metal floresans şiddeti

I_0 : Bileşik floresans şiddeti

X : Mol kesri (Metal/Metal+Bileşik)

n : Hedef metal iyonu ile bileşik arasındaki stokiyometri

Tablo 3.2: Job's denklemleri için Metal-Bileşik çalışması.

Bileşik (mL)	Metal (mL)	(Metal)/(Metal+Bileşik)	X:Mol kesri
3	0	0/3	0
2,7	0,3	0,3/3	0,1
2,4	0,6	0,6/3	0,2
2,1	0,9	0,9/3	0,3
1,8	1,2	1,2/3	0,4
1,5	1,5	1,5/3	0,5
1,2	1,8	1,8/3	0,6
0,9	2,1	2,1/3	0,7
0,6	2,4	2,4/3	0,8
0,3	2,7	2,7/3	0,9
0	3	3/3	1

3.4.9. Fotokararlılık

1×10^{-6} M bileşik çözeltilerinin içerisinde $0,01$ M Fe^{+3} ve Cu^{+2} çözeltilerinden ayrı ayrı $10 \mu\text{L}$ ekleyip her iki bileşiğin de fotokararlılığı incelenmiştir. 0-60 dk aralığında 10 dk aralıklar ile floresans spektrumları alınıp değişimler incelenmiştir. Bileşiklerin yüksek fotokararlılığı ölçümlerde elde edilen sinyaller açısından oldukça önemli bir husustur.

3.4.10. Bileşiklerin EDTA ile Gerikazanım Çalışması

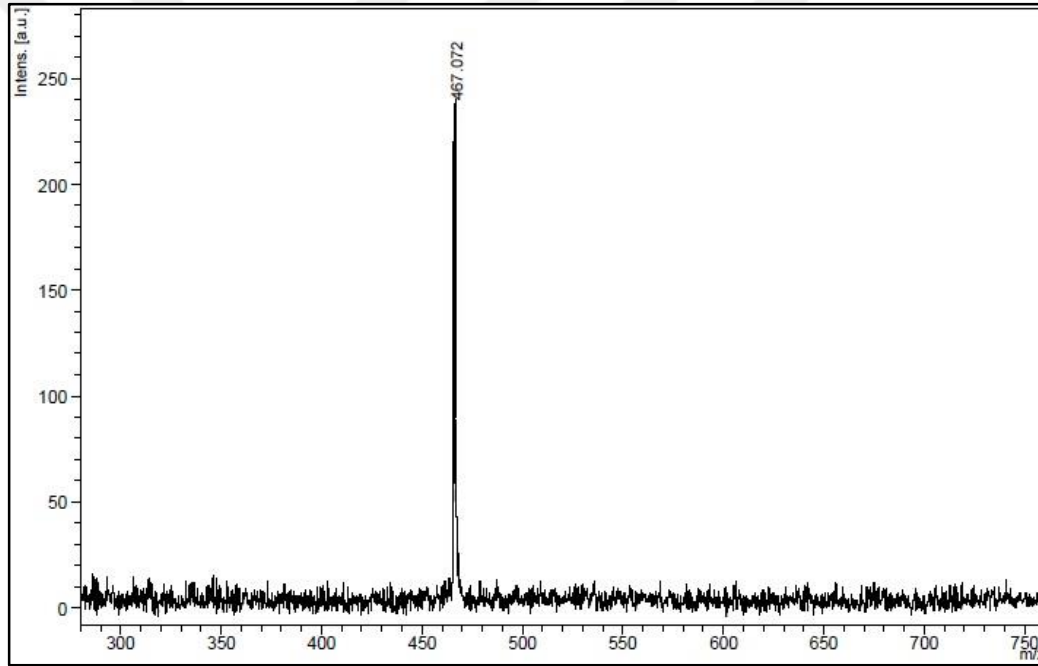
Bu çalışmadaki amaç, iyon değişim süreci ile bağlanan hedef metal iyonu ile etkileşebilecek başka bir bileşik ya da iyon olup olmadığını belirlemektir. Bileşiklerini içeren çözeltilere Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonları eklendikten sonra, $0,1$ M deiyonize su ile hazırlanan etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) çözeltisinden eklenerek bileşiklerin başlangıç floresans sinyallerine ulaşp ulaşamadığını belirlemektir.

4. DENEYSEL SONUÇLAR

4.1. Yapı Karakterizasyon Çalışmaları

4.1.1. 3 Bileşiğinin Yapı Karakterizasyonları

3 bileşiğinin kütle analizi Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI) kütle spektrometresi tekniği ile incelendiğinde, moleküler iyon piki 467.072 m/z (%100) olarak görülmektedir. Bu pik beklenen değerle (467.100) uyum göstermektedir (Şekil 4. 1).



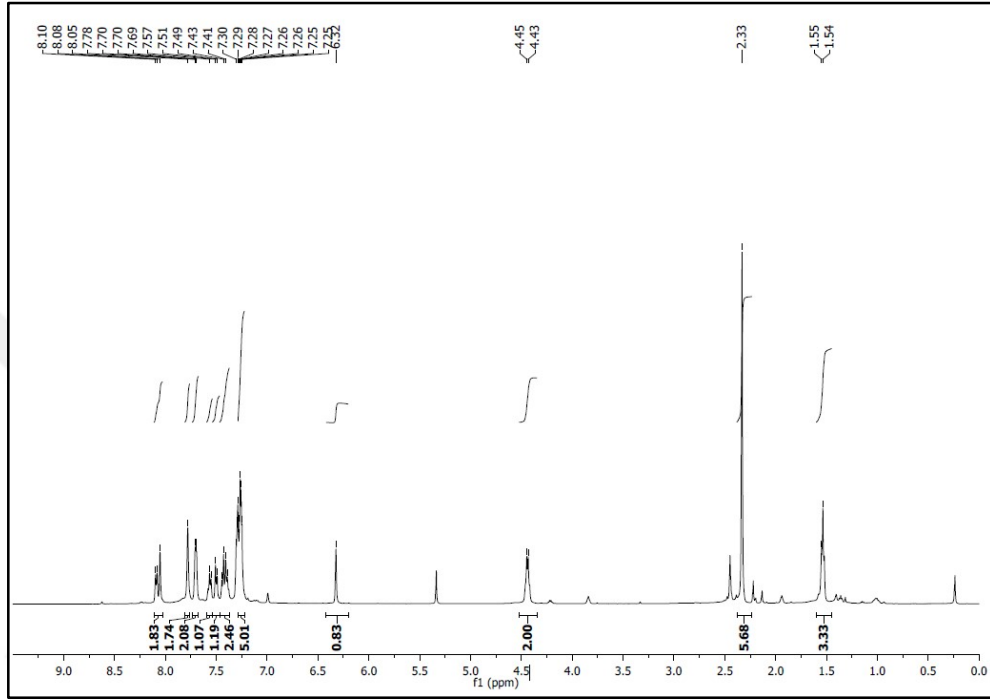
Şekil 4.1: 3 Bileşiğinin kütle spektrumu.

3 bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarından elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir.

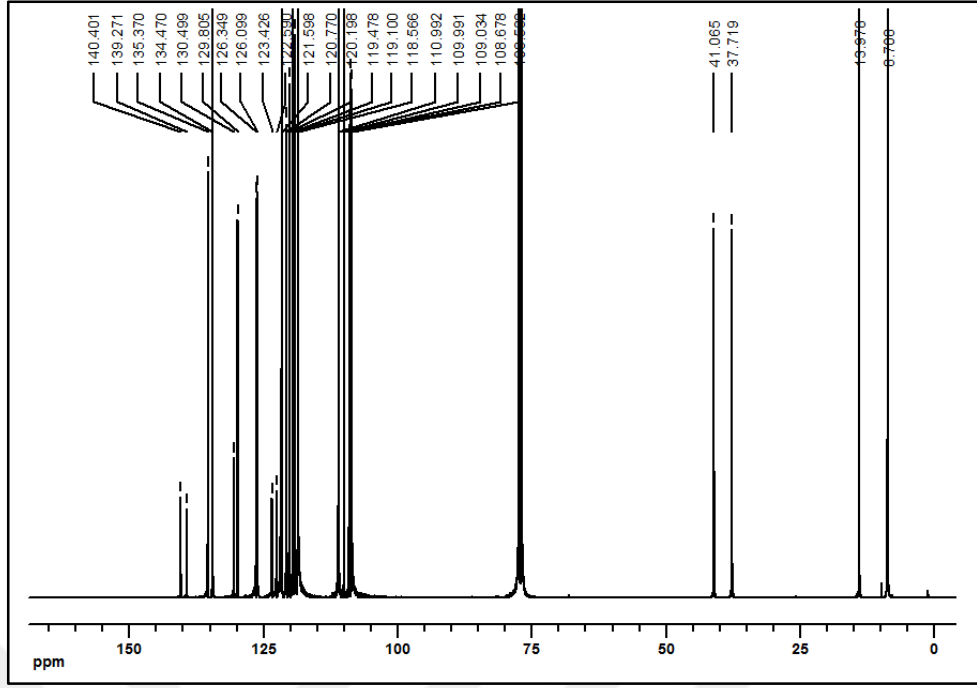
^1H NMR (500 MHz, Chloroform- d) δ_{H} = 8.14 – 7.98 (m, 2H, Ar-H), 7.78 (s, 2H, Ar-H), 7.74 – 7.67 (m, 2H, Ar-H), 7.56 (d, 1H, J = 7.2 Hz, Ar-H), 7.50 (d, 1H, J = 8.0 Hz, Ar-H), 7.42 (dd, 2H J = 18.4, 8.2 Hz, Ar-H), 7.30 – 7.25 (m, 5H, Ar-H), 6.32 (s, 1H,

CH), 4.44 (d, 2H $J = 7.1$ Hz, CH₂), 2.33 (s, 6H, CH₃), 1.54 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH₃) ppm (Şekil 4.2).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ_c = 140.4, 139.2, 135.3, 130.4, 129.8, 126.3, 126.0, 123.4, 127.5, 121.5, 120.7, 120.1, 119.4, 119.1, 118.5, 110.9, 109.9, 109.0, 108.6, 100.5, 41.0, 37.7, 13.9, 8.7 ppm (Şekil 4.3).



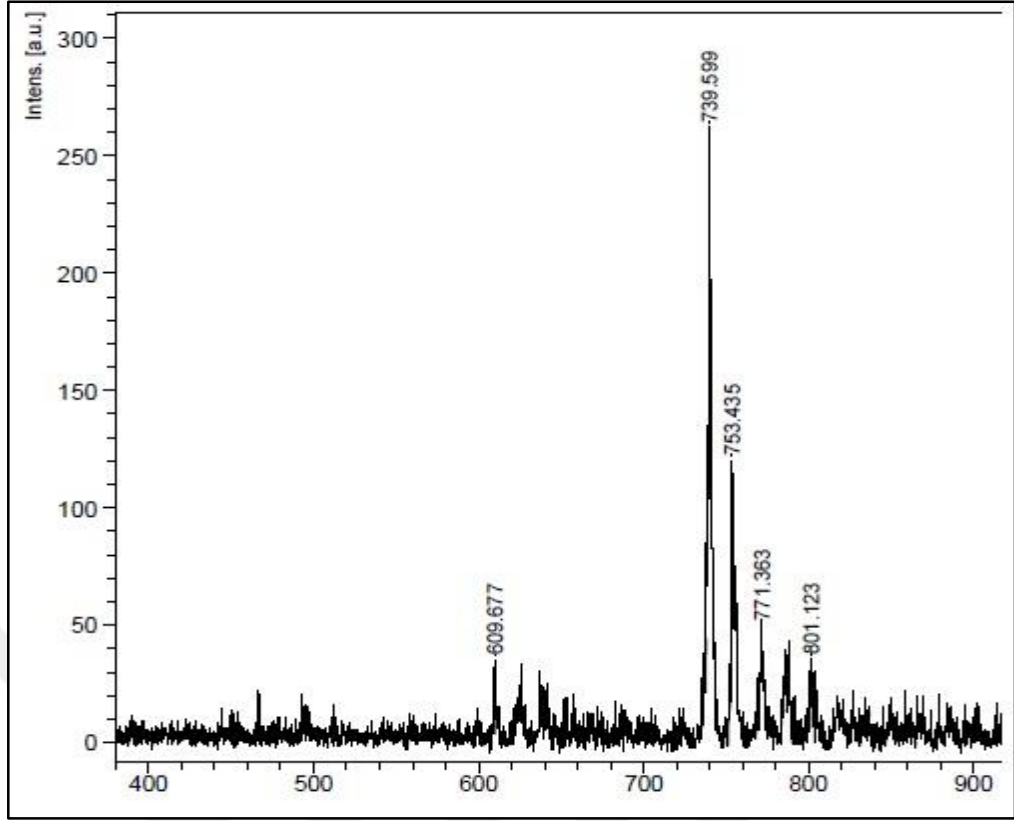
Şekil 4.2: 3 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



Şekil 4.3: 3 bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu.

4.1.2. 4 Bileşiğinin Yapı Karakterizasyonları

4 bileşiğinin Matris Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI) kütle spektrometresi tekniği ile incelendiğinde, moleküler iyon piki 739.599 m/z (%100) olarak görülmektedir. Bu pik beklenen değerle (739.37) uyum göstermektedir (Şekil 4.4).

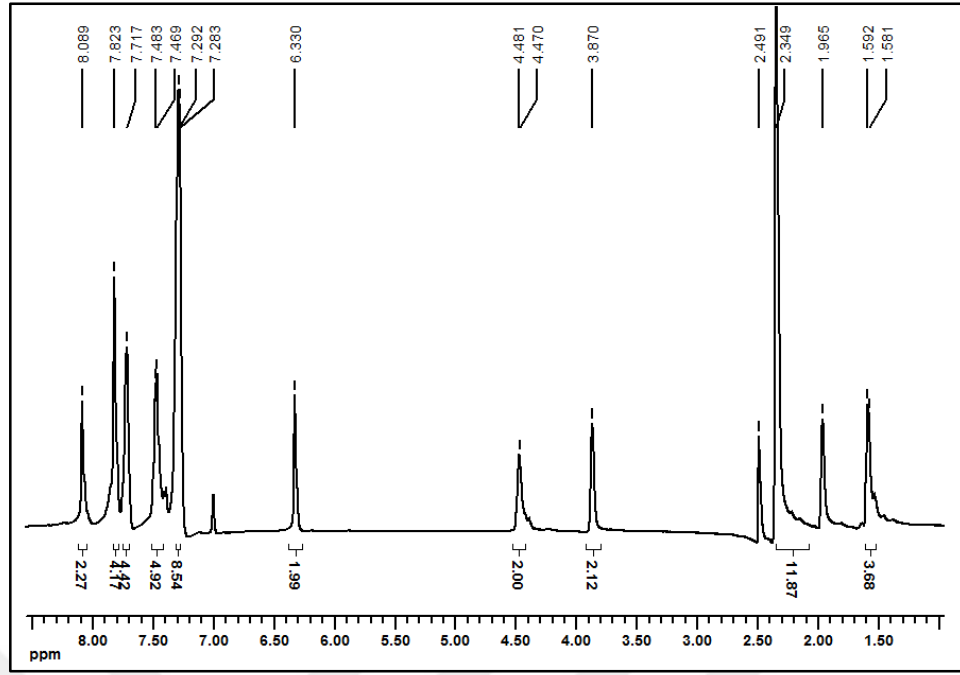


Şekil 4.4: 4 bileşiğinin kütle spektrumu.

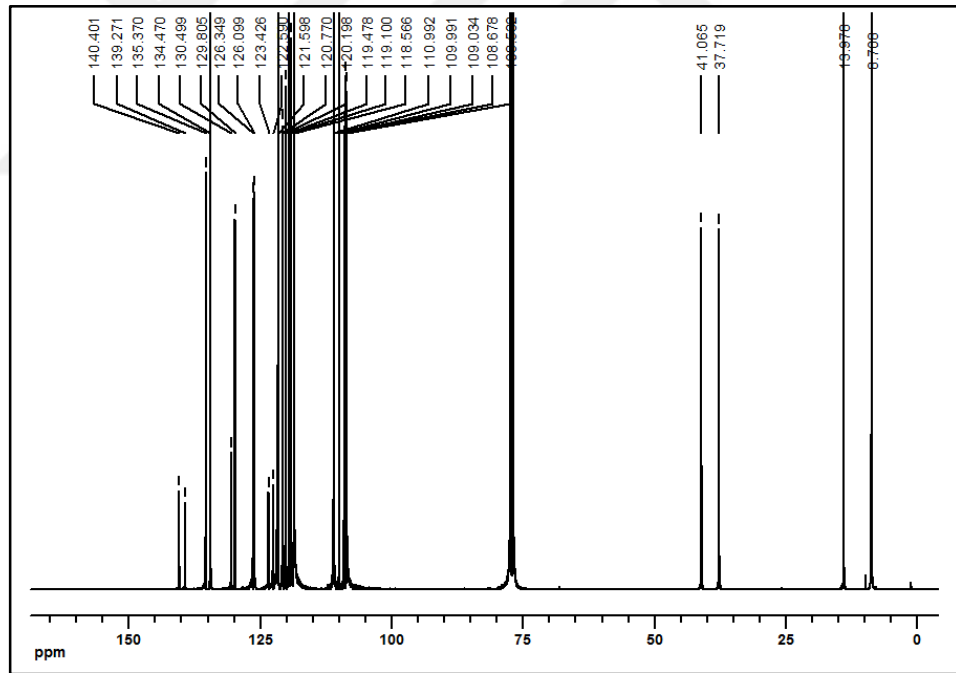
4 bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR ölçümlerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir.

^1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ_{H} = 8.09 (s, 2H, Ar-H), 7.82 (s, 4H, Ar-H), 7.72 (s, 4H, Ar-H), 7.47 (d, J = 6.8 Hz, 4H, Ar-H), 7.29 (s, 8H, Ar-H), 6.33 (s, 2H, CH grupları), 4.48 (d, J = 5.8 Hz, 2H, CH_2), 2.35 (s, 12H, 4x CH_3), 1.59 (d, J = 5.5 Hz, 3H, CH_3).ppm (Şekil 4.5).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ_{C} = 139.6, 135.3, 134.3, 131.0, 129.7, 126.6, 123.0, 121.5, 120.5, 119.4, 118.5, 111.0, 109.9, 108.4, 68.0, 41.0, 37.8, 25.7, 14.0, 8.0 ppm (Şekil 4.6).



Şekil 4.5: 4 bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



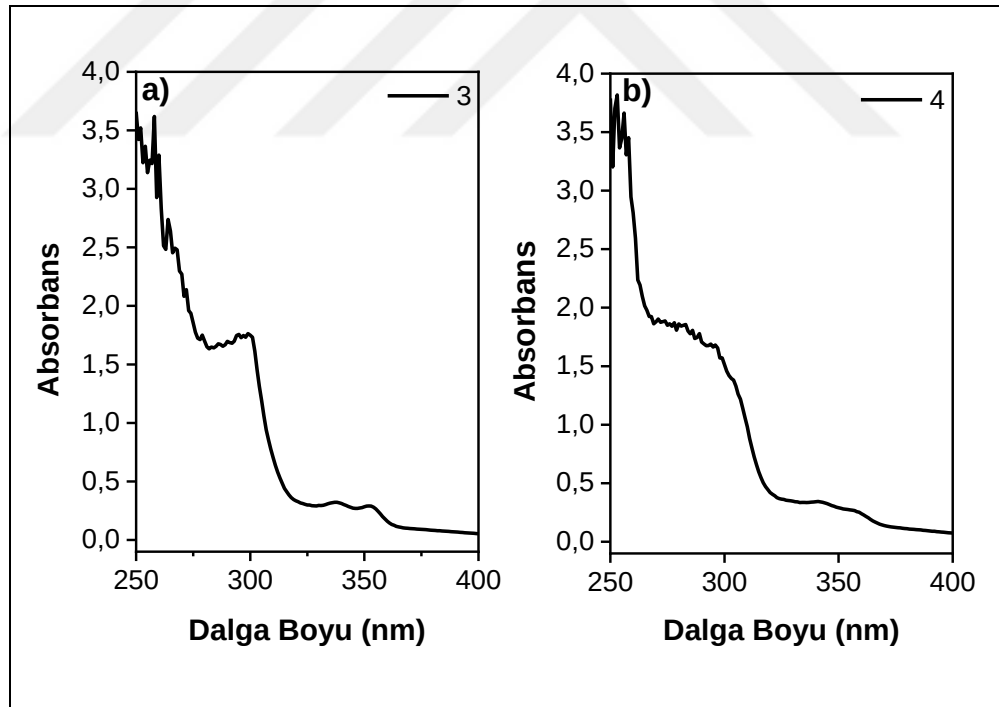
Şekil 4.6: 4 bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu.

4.2. Fotofiziksel ve Floresans Sensör Özelliklerinin İncelenmesi

Kimyasal açıdan kararlı bir yapıya sahip olan, turuncgillerin kabuklarından ve kömür katranından antrasen eldesinde yan ürün olarak meydana gelen karbazol, UV (ultraviyole) ışığına maruz kaldığında kuvvetli floresans etkisi göstermektedir. Tez kapsamında sentezlenen karbazol köprülü indol bileşiklerinin fotofiziksel ve metal sensör özellikleri incelenmiştir.

4.2.1. Bileşiklerin En Yüksek Dalga Boyunun Belirlenmesi

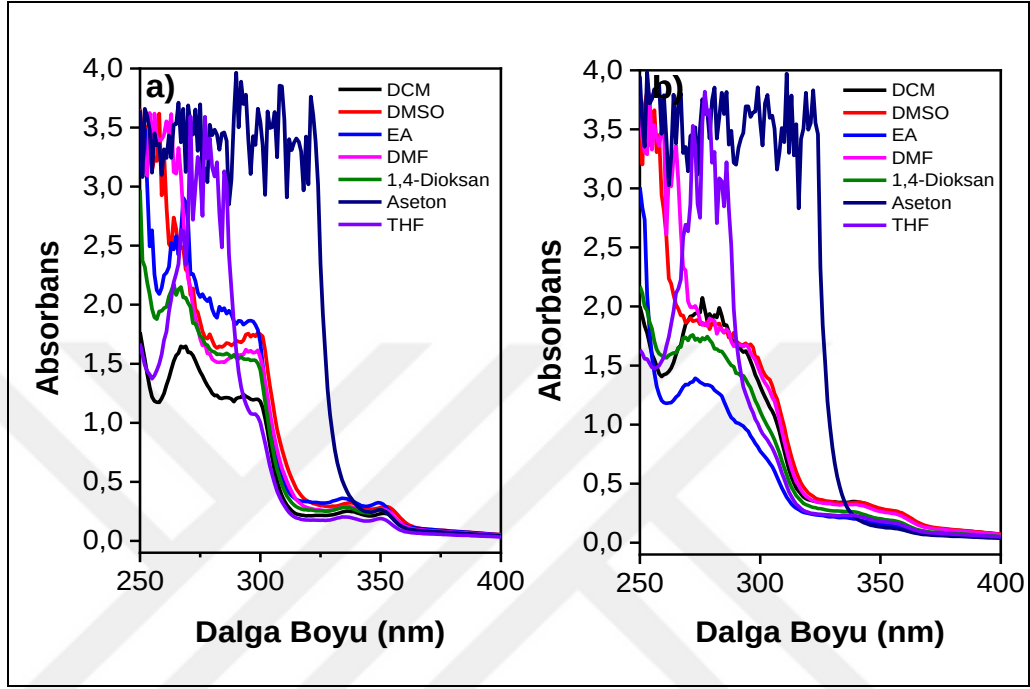
Bileşiklerin (3 ve 4) çözünürlüğünün en iyi olduğu çözücü DCM olduğundan, dalga boyu belirleme aşamasında çözücü olarak DCM kullanılmıştır. UV-Vis absorbans tekniği ile en yüksek dalga boyu değerleri 290 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: a) $5,47 \times 10^{-5}$ M'lik 3 ve b) $4,33 \times 10^{-5}$ M'lik 4 bileşiklerinin DCM çözücüsünde UV-Vis absorpsiyon spektrumları.

Farklı çözücüler (DCM, DMSO, EA, DMF, 1,4-dioksan, aseton, THF) kullanarak bileşiklerin (3 ve 4) 250-400 nm aralığında UV-Vis spektrumları alınmıştır

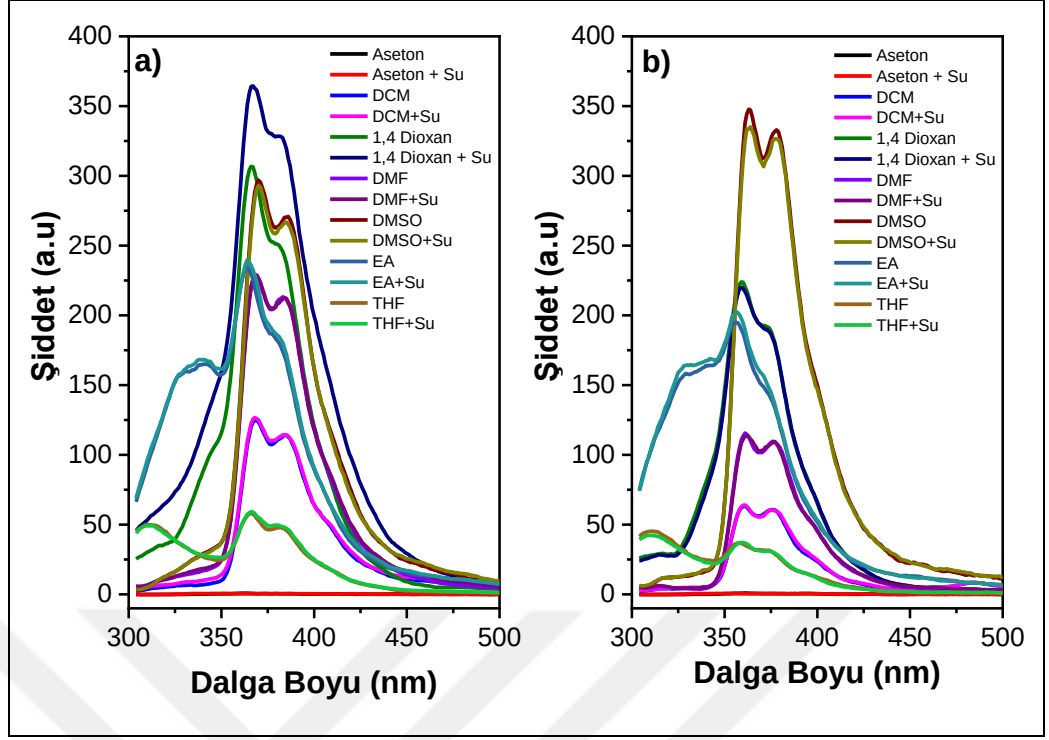
(Şekil 4.8). Aseton ve THF çözücüler karbazolün absorpsiyon bölgesinde absorbans verdiği için karbazol piki görülememiştir. Diğer beş çözücünün absorpsiyon spektrumlarına göre ise, bileşiklerin absorpsiyon yaptığı bölgelerde gerçekleştirilen tarama sonucu her iki bileşik için de 290 nm uyarma dalga boyu olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.8: a) $5,47 \times 10^{-5}$ M'lik 3 ve b) $4,33 \times 10^{-5}$ M'lik 4 bileşiklerinin farklı çözücülerdeki UV-Vis absorpsiyon spektrumları.

4.2.2. Bileşiklerin Farklı Çözücülerdeki Floresans Spektrumları

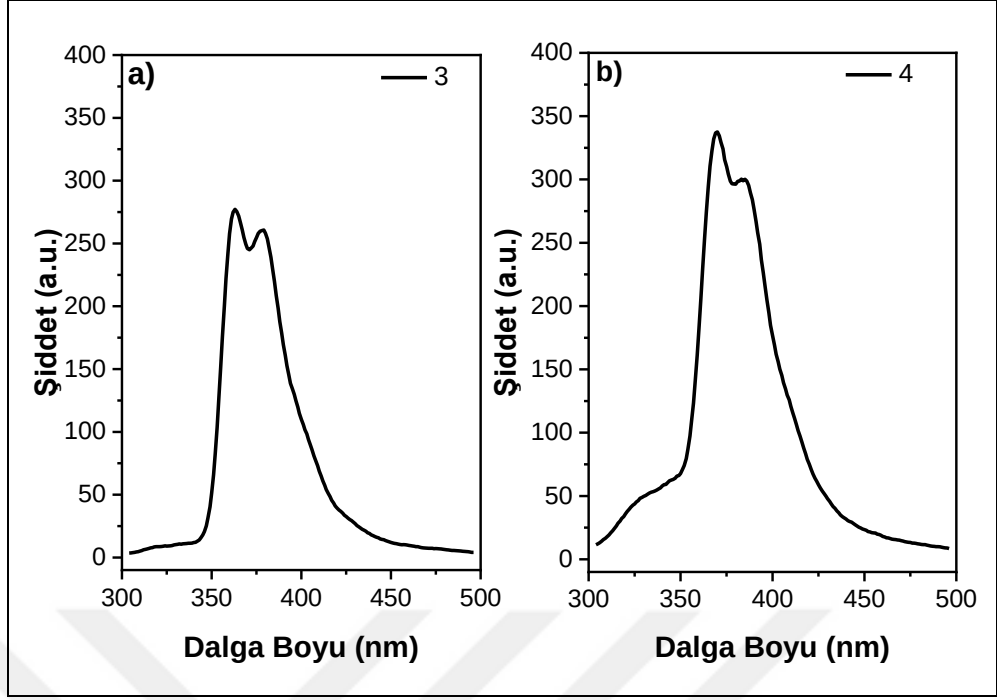
Karbazol köprülü ikili ve dörtlü indol türevlerinin uygun konsantrasyonda farklı çözücülerde (DCM, DMSO, EA, DMF, 1,4-dioksan, aseton, THF) emisyon spektrumları alınmıştır. Ayrıca suyun farklı çözücülerdeki bileşikler üzerinde etkisini incelemek amacı ile, toplam 3mL'lik çözelti hacmindeki örnekler 100 μ L su eklenerek emisyon spektrumları alınmıştır (Şekil 4.9). En yüksek floresans sinyalinin gözlemlendiği ve su ile karıştığında floresans sönümlenmesinin gözlemlenmediği DMSO, bileşikler için uygun çözücü olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.9: a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin farklı çözücülerde ve su eklenmiş halinin emisyon spektrumları.

4.2.3. Bileşiklerin Konsantrasyon Tespiti

Karbazol köprülü ikili ve dörtlü indol türevlerinin (3 ve 4) ana stok çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 1×10^{-6} M'lık çalışma çözeltilerinin floresans ölçümleri alınmıştır. Floresans ölçüm şiddetleri incelendiğinde cihaz ölçüm aralığında olduğu için 1×10^{-6} M konsantrasyona karar verilmiştir (Şekil 4.10).

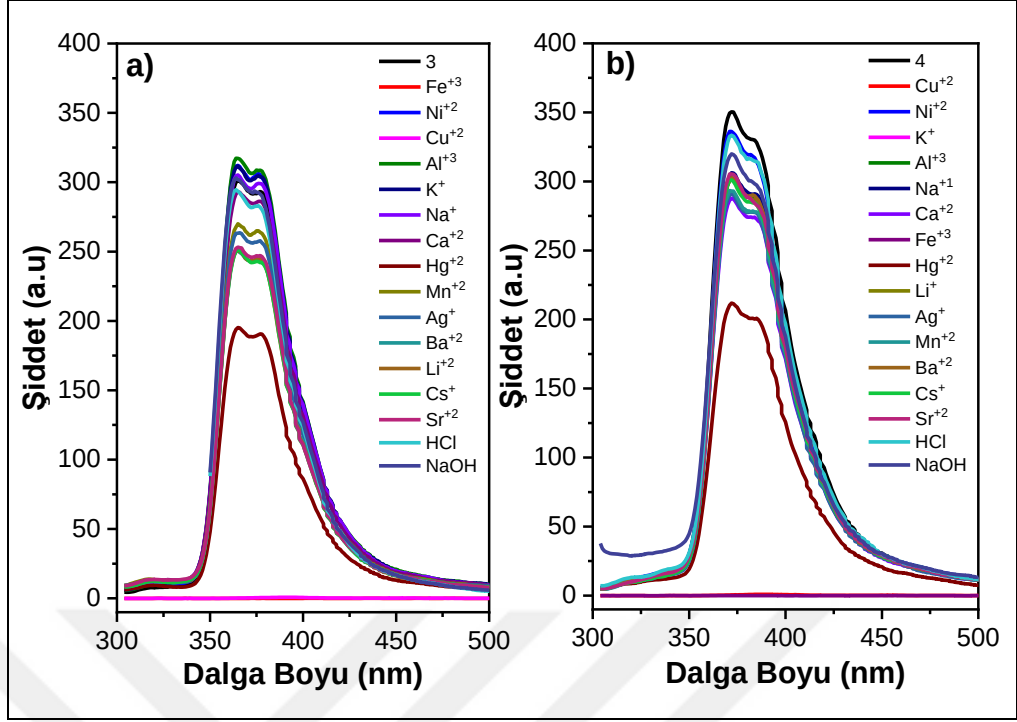


Şekil 4.10: a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin DMSO çözücüsündeki emisyon spektrumları.

4.2.4. Bileşiklerin Emisyon Spektrumlarına Metal İyonlarının Etkisi

Karbazol köprülü ikili ve dörtlü indol türevlerinin 1×10^{-6} M konsantrasyonda ve DMSO çözücüsünde hazırlanarak toplam hacim 3 mL olacak şekilde 0.1 M metal, asit ve baz çözeltilerinden 100 μ L eklenerek emisyon spektrumları alınmıştır (Şekil 4.11).

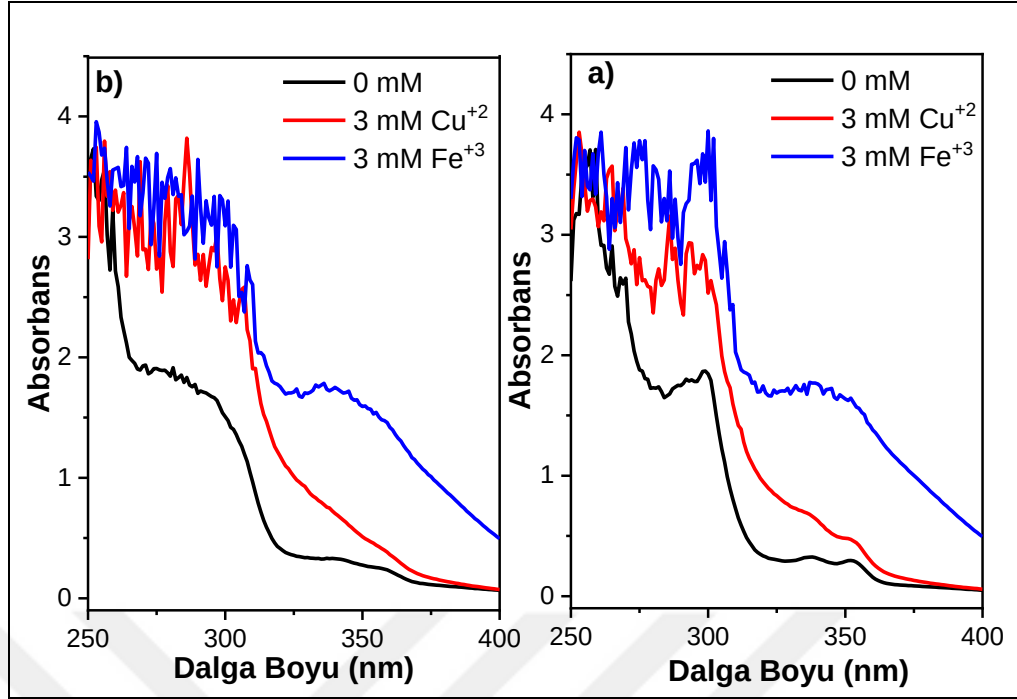
Bileşiklerin Fe^{+3} , Cu^{+2} , Ni^{+2} , Al^{+3} , K^{+1} , Na^{+1} , Ca^{+2} , Hg^{+2} , Mn^{+2} , Ag^{+1} , Ba^{+2} , Li^{+1} , Cs^{+1} , Sr^{+2} metal iyonları ve HCl asidi ve NaOH bazına karşı seçicilikleri, floresans spektrumları ile bileşiklerin DMSO içerisindeki çözeltilerine $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NiCl_2 , CuCl_2 , AlCl_3 , KCl , NaCl , CaCl_2 , HgCl_2 , MnCl_2 , AgNO_3 , BaCl_2 , LiCl , CsNO_3 , SeCl_2 metal tuzları ilave edildiğinde floresans sinyallerinde önemli bir değişiklik gözlemlenmezken Fe^{+3} ve Cu^{+2} metal iyonları ilavesinde floresans karakterleri sönümlenmiştir. Ancak, diğer metal iyonları bileşiklerin floresans sinyallerini önemli ölçüde etkilemediği gözlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiğinin DMSO çözücüsünde farklı metal iyonları ile emisyon spektrumları.

4.2.5. Bileşiklerin Emisyon Spektrumuna Metal Karışımı İyonlarının Etkisi

Bileşikler (3 ve 4) DMSO içerisinde 1×10^{-6} M konsantrasyonunda toplam hacim 3 mL olacak şekilde hazırlandı. Bileşiklerin (3 ve 4) içerisine metal, asit ve baz çözeltilerinin her birinden 333 μ M olacak şekilde ayrı ayrı eklenerek emisyon spektrumları alındı (Şekil 4.12). Daha sonra bileşiklere metal, asit ve baz karışımları (NiCl₂, AlCl₃, KCl, NaCl, CaCl₂, HgCl₂, MnCl₂, AgNO₃, BaCl₂, LiCl, CsNO₃, SeCl₂, HCl, NaOH) eklenerek tekrar emisyon spektrumları alınmıştır (Şekil 4.12). Bileşiklerin bağlı floresans sinyalleri, analiz matrisinde bulunabilecek iyonlardan Fe³⁺ ve Cu²⁺ iyonlarını içermeyen metal karışımı eklenmesi ile değişmezken, Fe³⁺ ve Cu²⁺ iyonlarını içeren metal karışımı eklenmesi ile güçlü bir sönmelenme göstermiştir.



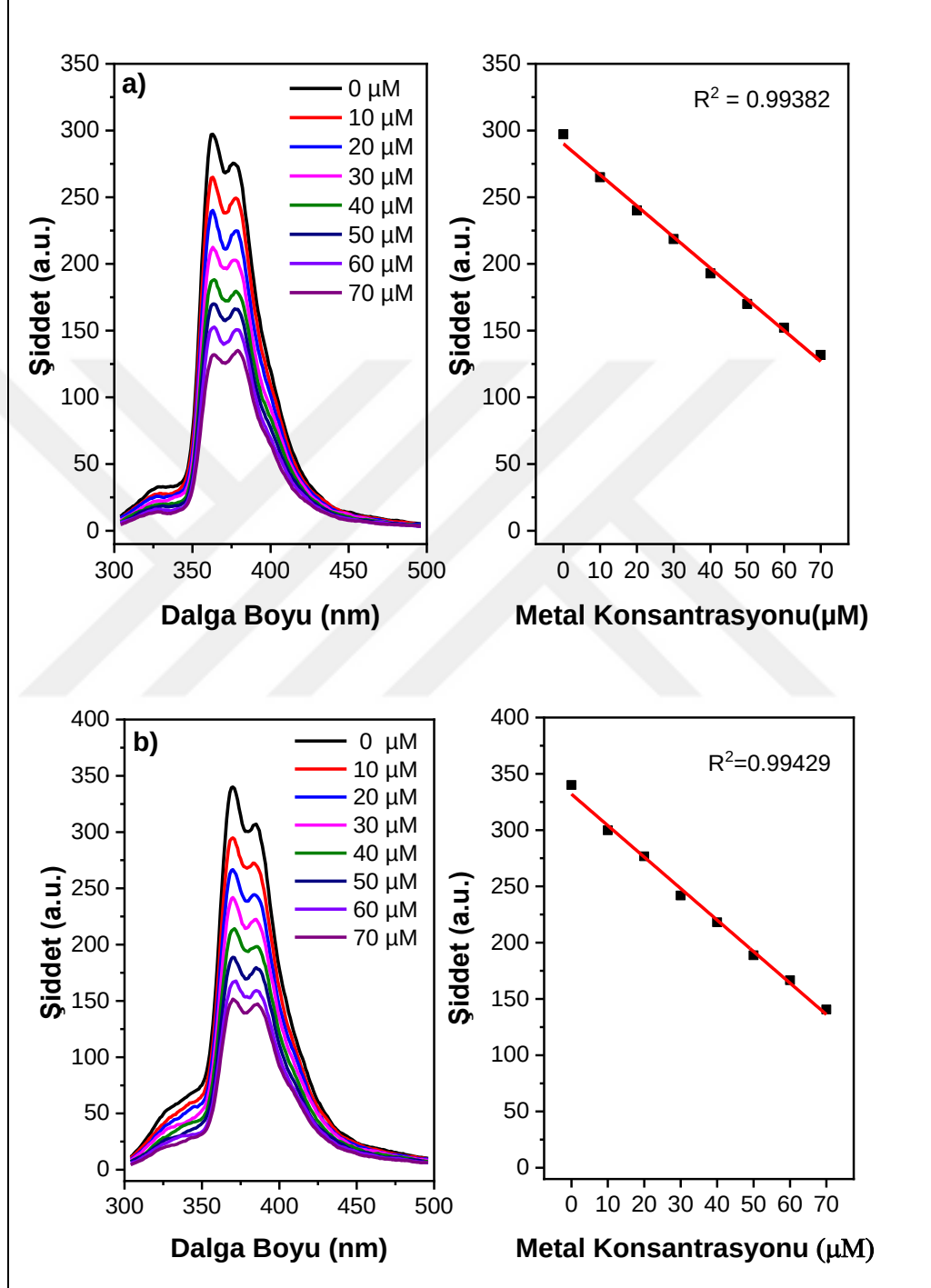
Şekil 4.13: a) 5.47×10^{-5} M'lik 3 bileşiğinin ve b) 4.33×10^{-6} M'lik 4 bileşiğinin DMSO çözücüsünde 3mM Cu^{+2} ve Fe^{+3} iyonları ile absorpsiyon spektrumları.

4.2.7. Bileşiklerin Metal İyonları ile Spektroflorimetrik Titrasyon ve Tespit Limitleri

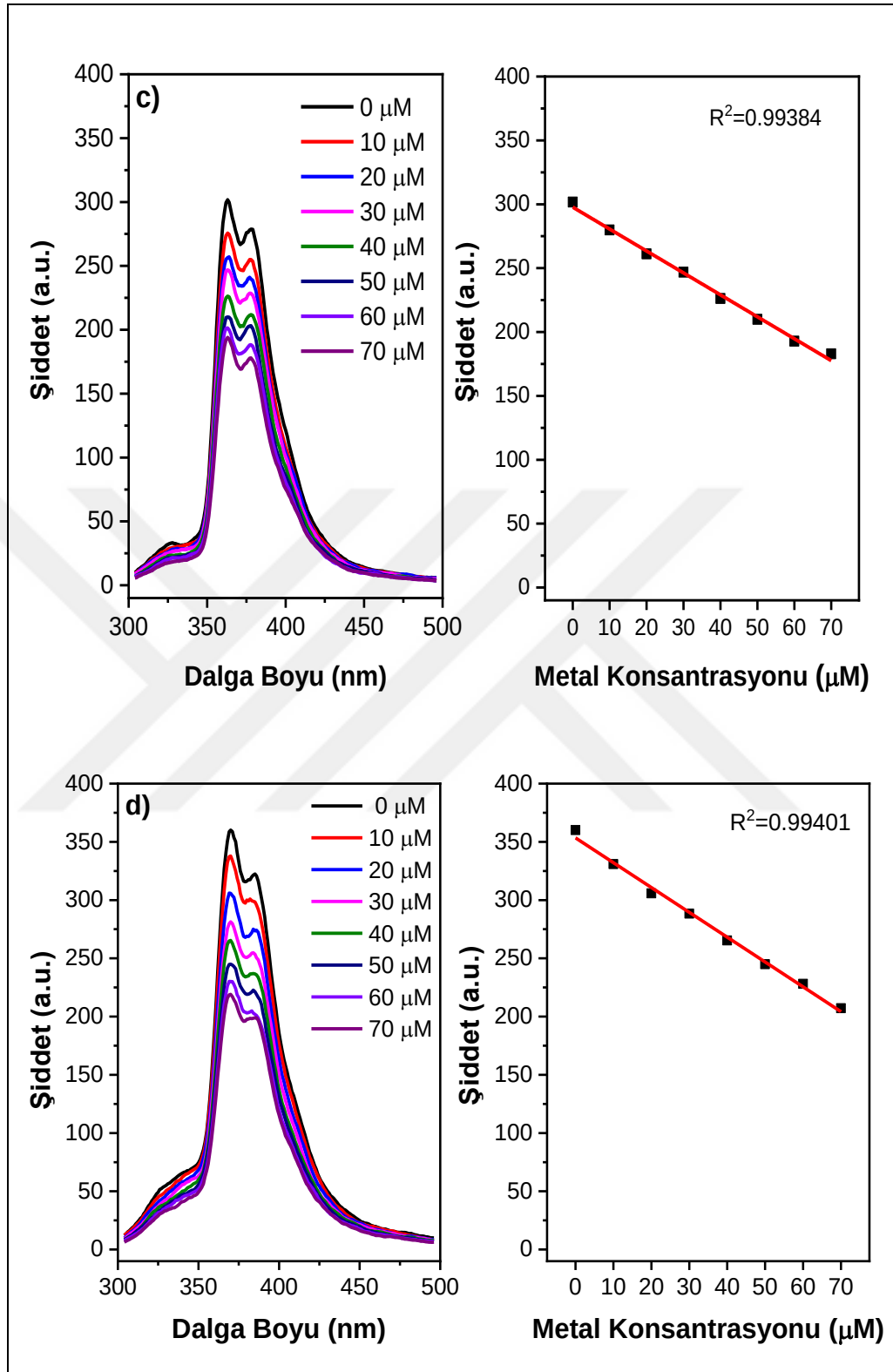
Şekil 4.14' deki grafikler incelendiğinde 3 ve 4 bileşiklerinin Fe^{+3} ve Cu^{+2} metal iyonları etkisiyle floresans spektrumlarında önemli bir değişim gözlemlendi. Çözeltilerin 290 nm'de uyarılmasıyla maksimum floresansın olduğu 370 nm'de Fe^{+3} ve Cu^{+2} metal iyonları etkisiyle floresans şiddetinde belirgin bir düşüş olduğu görüldü. Bu etkileşimleri detaylı incelemek için Fe^{+3} ve Cu^{+2} metal iyonlarının değişen konsantrasyonlarının sabit konsantrasyondaki 3 ve 4 bileşiklerinin floresans spektrumu üzerine etkisi incelendi. Artan Fe^{+3} ve Cu^{+2} metal iyonları konsantrasyonu ile de bileşiğin 370 nm'deki floresans şiddetinde önemli bir düşüş olmasına rağmen bu değişimin düzenli olduğu saptandı. Bununla birlikte Fe^{+3} ve Cu^{+2} için elde edilen kalibrasyon grafiğinin R^2 değerleri de Şekil 4.14' de gösterilmiştir.

Bileşik 3 ve 4'ün Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarına karşı yapılan floresans titrasyonlar ile hesaplanan tespit limitleri sırasıyla $[3- \text{Fe}^{+3}]: 8,962 \mu\text{M}$, $[3- \text{Cu}^{+2}]: 8,961 \mu\text{M}$, $[4- \text{Fe}^{+3}]: 10,699 \mu\text{M}$, $[4- \text{Cu}^{+2}]: 10,679 \mu\text{M}$ olarak belirlendi. Tespit limitleri (LOD), $3\sigma/K$ (σ : Kör numunenin standart sapması, K: kalibrasyon grafiğinin eğimi) formülünden

hesaplandı. Literatürde sentezlenen bazı bileşiklerin ve bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin Cu^{+2} ve Fe^{+3} metal iyonlarına karşı tespit limitleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.14: a) 1×10^{-6} M’lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin DMSO çözücüsünde Fe^{+3} metal iyonunun floresans titrasyon ve kalibrasyon grafikleri c) 1×10^{-6} M’lik 3 ve d) 4 bileşiklerinin DMSO çözücüsünde Cu^{+2} metal iyonunun floresans titrasyon ve kalibrasyon grafikleri.



Şekil 4.14: Devam.

Tablo 4.1: Literatürde sentezlenen bazı bileşikler ve tespit limitleri.

Bileşik	Algılanan Metal İyonu	Tespit Limiti (µM)	Referans
Karbazol bazlı Schiff bazı	Fe ⁺³	4.23	[6]
	Cu ⁺²	5.67	
İndol[2,3-a]karbazol	Fe ⁺³	0.410	[9]
	Cu ⁺²	0.293	
Karbazol türevli Schiff bazı	Fe ⁺³	0.012	[11]
Karbazol köprülü ikili indol	Fe ⁺³	8.962	Bu çalışma
	Cu ⁺²	8.961	
Karbazol köprülü dörtlü indol	Fe ⁺³	10.699	
	Cu ⁺²	10.679	

4.2.8. Bileşiklerin Kompleks Oluşumunun Belirlenmesi

Grafiklerdeki dönüm noktalarından x ile belirtilen mol fraksiyonu bulunarak formülde yerine konur (Eşitlik 4.1) ve hedef metal iyon ile bileşik arasındaki stokiyometri belirlenmiş olur.

3 bileşiği - Cu⁺²- Fe⁺³: X: 0,5

4 bileşiği - Cu⁺²- Fe⁺³: X: 0,33

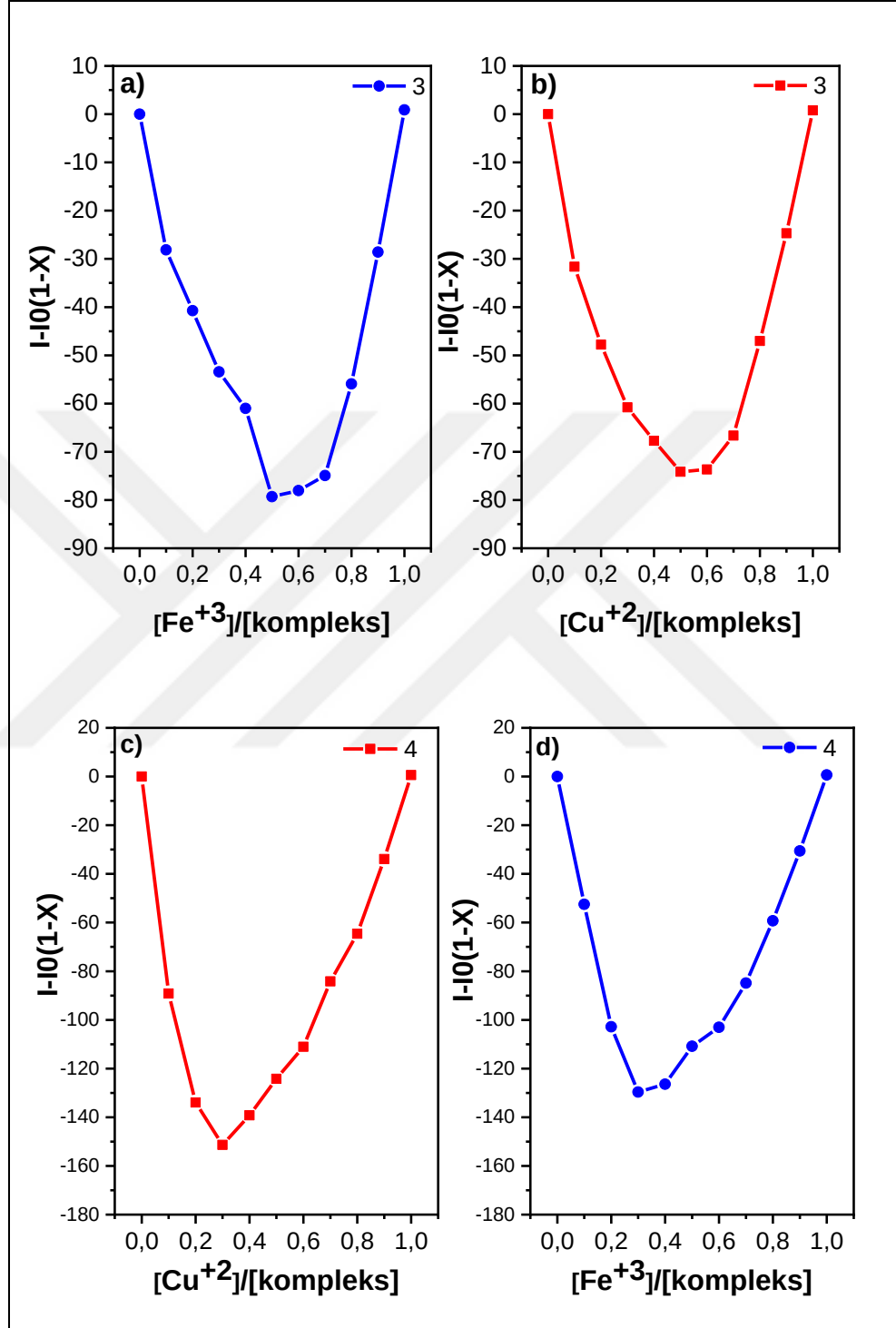
$$n = \frac{x}{1-x} \quad (4.1)$$

X: Mol fraksiyonu (Metal/Metal+Bileşik(mL))

n: Hedef metal iyonu ile bileşik arasındaki stokiyometri

3 ve 4 Bileşiklerinin Fe⁺³, Cu⁺² iyonları ile oluşturduğu komplekslerin stokiyometrilere “Sürekli Değişim Yöntemi (Job’s metodu)” kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir [49]. Şekil 4.15’te görüldüğü üzere, 3 ve 4 bileşiklerinin Fe⁺³ ve Cu⁺² ile oluşturduğu komplekslerdeki Fe⁺³ ve Cu⁺² iyonlarının mol fraksiyonları 0.5 ve 0.25 olarak belirlenirken, oluşan komplekslerin floresans sinyallerinin maksimum değere ulaştığı gözlemlendi. Bu durum oluşan [Bileşik 3- Fe⁺³],

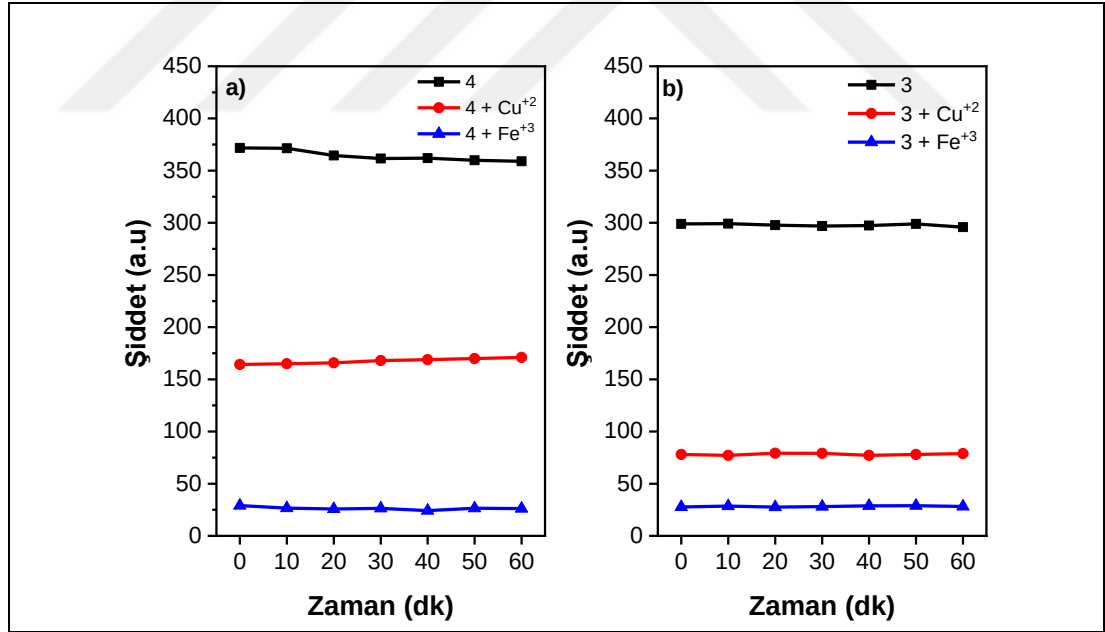
[Bileşik 3- Cu^{+2}] ve [Bileşik 4- Fe^{+3}], [Bileşik 4- Cu^{+2}] komplekslerindeki stokiometrinin 1:1 (bileşik:metal) ve 1:2 olduğunu göstermektedir [50].



Şekil 4.15: 1×10^{-6} M' lik 3 bileşiğinin DMSO çözücüsünde a) Fe^{+3} metal iyonu ve b) Cu^{+2} metal iyonu ile Job's diyagramları.
 1×10^{-6} M'lik 4 bileşiğinin DMSO çözücüsünde c) Cu^{+2} metal iyonu ve d) Fe^{+3} metal iyonu ile Job's diyagramları.

4.2.9. Bileşiklerin Hedef Metal İyona Karşı Fotokararlılığı

Bileşiklerin belirli zaman aralıklarında metaller ile yaptığı sönümlenmenin emisyon spektrumlarından alınan veriler ile aşağıdaki fotokararlılık grafikleri çizilmiştir (Şekil 4.16). Spektroflorimetrik analizlerde tekrarlanabilirliği yüksek ve doğru sonuçların alınması için analizde kullanılacak floresans reseptörlerin ve oluşturdukları komplekslerin ışığa karşı kararlı olması beklenir. Bu nedenle 3 ve 4 bileşiklerinin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonları ile DMSO çözeltisinde oluşturduğu komplekslerin ışığa karşı kararlılıkları gün ışığında 0-60 dakika arasında bağıl floresans sinyallerindeki değişimler ile değerlendirildi. Şekil 4.16'da görüldüğü gibi 3 ve 4 bileşiklerinin ve bu bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonları ile DMSO çözeltisinde oluşturduğu komplekslerinin bağıl floresans sinyallerinin 60 dakikaya kadar neredeyse hiç değişmemiştir. Bu sonuç, floresans reseptör olarak kullanılan 3 ve 4 bileşiklerinin ve bu bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonları ile oluşturdukları komplekslerin ışığa karşı yüksek kararlılıkta olduğunu göstermektedir.



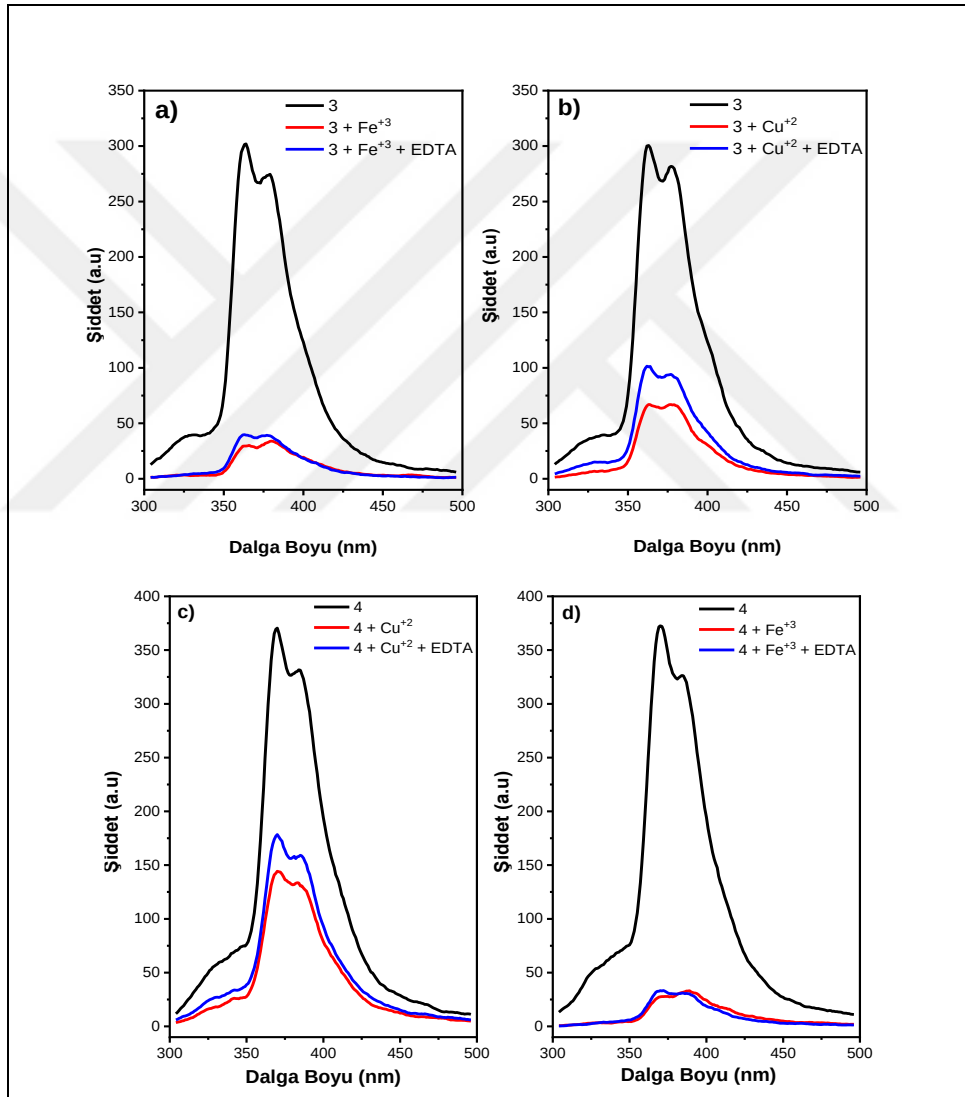
Şekil 4.16: a) 1×10^{-6} M'lik 4 ve b) 3 bileşiklerinin DMSO çözeltisinde Cu^{+2} ve Fe^{+3} metal iyonları ile fotokararlılık diyagramı.

4.2.10. Bileşiklerin EDTA ile Gerikazanım Çalışması

Bileşikler 1×10^{-6} M konsantrasyonda ve DMSO içerisinde toplam 3mL olacak şekilde hazırlanan örneklerine etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) ilavesi ile geri

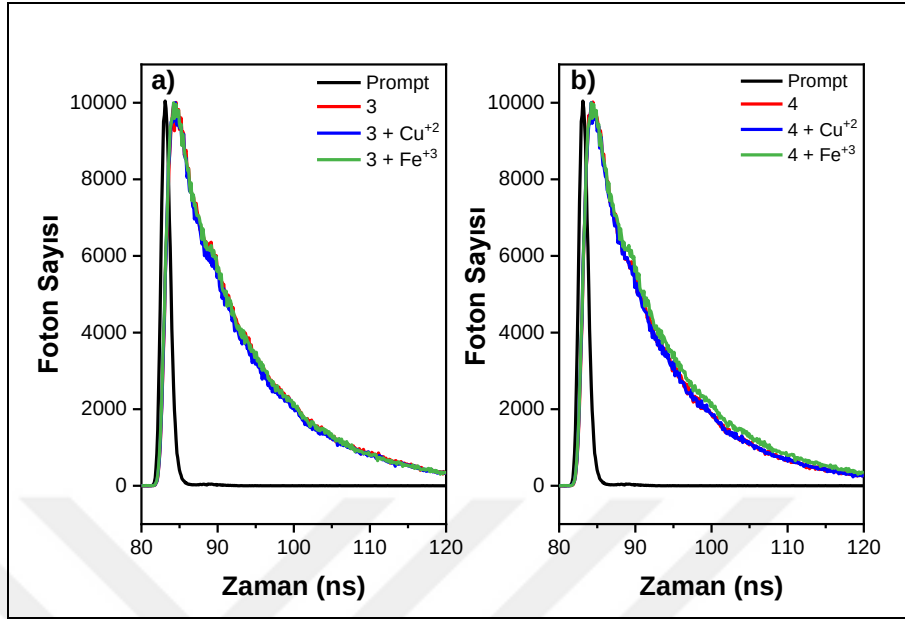
kazanım çalışması yapılmış ve emisyon spektrumları aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.17).

Bileşik 3 ve 4'ün Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarının eklenmesi ile sönümlenen floresans emisyon sinyalleri EDTA eklenmesi ile büyük ölçüde değişmemiştir. Bu sonuç, Bileşik 3 ve 4'ün Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonları ile oluşturduğu komplekslerin tersinir olmadığını göstermektedir (Şekil 4.17). Elde edilen sonuçlara göre bileşiklerle metal iyonlarının koordinasyonun tersinir olmadığı ve EDTA eklenmesi ile sinyal dönüşümünün sağlanamadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.17: 1×10^{-6} M'lik 3 bileşiği a) Cu^{+2} ve b) Fe^{+3} metal çözeltisinde EDTA ile geri kazanım emisyon spektrumları.
 1×10^{-6} M'lik 4 bileşiği c) Cu^{+2} ve d) Fe^{+3} metal çözeltisinde EDTA ile geri kazanım emisyon spektrumları.

4.2.11. Bileşiklerin Metal İyonları ile Life Time Grafikleri



Şekil 4.18: a) 1×10^{-6} M'lik 3 ve b) 4 bileşiklerinin DMSO çözeltisinde Cu^{+2} ve Fe^{+3} metal iyonları ile life time grafikleri.

Tablo 4.2: Bileşik 3, 4 ve [Bileşik – Fe^{+3}] kompleksleri için floresans ömür değerleri.

Bileşik	τ_0 (ns)	τ (ns) [Bileşik - Fe^{+3}]	τ_0/τ
3	$9,56 \pm 0,02$	$9,56 \pm 0,02$	1
4	$8,54 \pm 0,03$	$8,59 \pm 0,05$	0,99

Tablo 4.3: Bileşik 3, 4 ve [Bileşik – Cu^{+2}] kompleksleri için floresans ömür değerleri.

Bileşik	τ_0 (ns)	τ (ns) [Bileşik – Cu^{+2}]	τ_0/τ
3	$9,56 \pm 0,02$	$9,18 \pm 0,03$	1,04
4	$8,54 \pm 0,03$	$8,60 \pm 0,03$	0,99

3, 4 Bileşiklerinin ve bu bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonları ile oluşturdukları komplekslerin floresans ömür (τ) grafikleri Şekil 4.18'de, hesaplanan floresans ömürleri ise Tablo 4.2 ve Tablo 4.3 'de verilmiştir. Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Şekil 4.18'den anlaşılacağı üzere oluşan [Bileşik – Fe^{+3}], [Bileşik – Cu^{+2}] kompleksleri floresans ömürlerde çok küçük değişimlere neden olmuş ve τ_0/τ neredeyse 1'e eşit olduğu görülmüştür. Bu da floresans sinyallerinde meydana gelen sönümlenmenin,

statik sönümlenme mekanizması ile temel elektronik halde oluşan ve floresans özellik taşımayan komplekslerden kaynaklandığını göstermektedir [40].



5. SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında ilk olarak “Vilsmeier-Haack formilasyonu” yöntemi ile karbazol bileşiğinin aktif C3 ve C6 konumları aldehit grupları ile fonksiyonlandırılarak tekli ve çiftli karbazol türevleri elde edildi. Bu bileşiklerin 3-metil indol ile reaksiyonundan yeni tür karbazol köprülü ikili ve dörtlü indol türevlerinin (3 ve 4) sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirildi. Sentezlenen tüm bileşiklerin yapıları spektroskopik yöntemlerle karakterize edildi. Sentezlenen bu bileşiklerin fotofiziksel ve sensör özellikleri ise UV-Vis ve floresans spektroskopisi teknikleri ile araştırıldı. Karbazol köprülü ikili ve dörtlü indol türevlerinin (3 ve 4) en yüksek absorbans dalga boyu değerleri 290 nm olarak belirlendi. Bileşiklerin yedi farklı çözücü (DCM, DMSO, EA, DMF, 1,4 dioksan, aseton, THF) içerisinde absorbans çalışmaları gerçekleştirildi ve su ile floresans sönümlene göstermeyen DMSO uygun çözücü olarak belirlendi. Bileşiklerin (1×10^{-6} M) metal iyonlarına, asit ve baz çözeltilerine karşı floresan davranışları incelendiğinde ve Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarına karşı seçici oldukları belirlendi. Bileşik 3 ve 4'ün Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarına karşı yapılan floresans titrasyonlar çalışmaları sonunda, en düşük gözlenebilir sınırları sırasıyla $[3- \text{Fe}^{+3}]: 8.962 \mu\text{M}$, $[3- \text{Cu}^{+2}]: 8.961 \mu\text{M}$, $[4- \text{Fe}^{+3}]: 10.699 \mu\text{M}$, $[4- \text{Cu}^{+2}]: 10.679 \mu\text{M}$ olarak belirlendi. Ayrıca bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarına karşı fotokararlılıkları ve EDTA ile gerikazanımları da incelendi. Bileşiklerle metal iyonlarının koordinasyonun tersinir olmadığı ve EDTA eklenmesi ile sinyal dönüşümünün sağlanamadığı görüldü. Sentezlenen bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonları ile oluşturdıkları komplekslerin ışığa karşı yüksek kararlılıkta olduğu belirlendi.

Bu tez çalışması sonucunda karbazol köprülü ikili ve dörtlü indol bileşiklerinin atık sularda veya çevrede bulunan Cu^{+2} ve Fe^{+3} ağır metallerine karşı floresans sensör olarak kullanılabilir potansiyelleri gösterildi.

KAYNAKLAR

- [1] Liu, C. and Yan, B., (2016), "A novel photofunctional hybrid material of pyrene functionalized metal-organic framework with conformation change for fluorescence sensing of Cu^{2+} ", *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 235 541–546.
- [2] Chen, Z.-E., Zang, X.-F., and Zhang, H., (2023), "A thieno[2,3-a]carbazole-based multifunctional probe: colorimetric detecting of $\text{Fe}^{3+}/\text{Cu}^{2+}/\text{Hg}^{2+}$ and fluorescent sensing of Cu^{2+} ", *Journal of Molecular Structure*, 1284 135369.
- [3] Grotti, M., Abemoschi, M.L., Soggia, F., and Frache, R., (2003), "Determination of ultratrace elements in natural waters by solid-phase extraction and atomic spectrometry methods", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375 (2), 242–247.
- [4] Bobrowski, A., Nowak, K., and Zarębski, J., (2005), "Application of a bismuth film electrode to the voltammetric determination of trace iron using a $\text{Fe(III)-TEA-BrO}_3^-$ Catalytic system", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382 (7), 1691–1697.
- [5] Arslan, S., (2022), "Metal Türlerinin Tayini İçin Karbazol Temelli Floresans Sensörlerin Geliştirilmesi ve Uygulamaları", Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD.
- [6] Yang, L., Zhu, W., Fang, M., Zhang, Q., and Li, C., (2013), "A new carbazole-based Schiff-base as fluorescent chemosensor for selective detection of Fe^{3+} and Cu^{2+} ", *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 109 186–192.
- [7] Das, S., Powe, A.M., Baker, G.A., Valle, B., El-Zahab, B., Sintim, H.O. et al., (2012), "Molecular Fluorescence, Phosphorescence, and Chemiluminescence Spectrometry", *Analytical Chemistry*, 84 (2), 597–625.
- [8] Lakowicz, J.R., (2013), "Principles of Fluorescence Spectroscopy", Springer US.
- [9] Chen, Z.E., Zang, X.F., Yang, M., and Zhang, H., (2020), "A simple indolo[2,3-a]carbazole based colorimetric chemosensor for simultaneous detection of Cu^{2+} and Fe^{3+} ions", *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 234 118236.
- [10] Goshisht, M.K., Patra, G.K., and Tripathi, N., (2022), "Fluorescent Schiff base sensors as a versatile tool for metal ion detection: strategies, mechanistic insights, and applications", *Materials Advances*, 3 (6), 2612–2669.
- [11] Immanuel David, C., Prabakaran, G., Karuppasamy, A., Veetil, J.C., Kumar, R.S., Almansour, A.I., et al., (2022), "A single carbazole based chemosensor

for multiple targets: Sensing of Fe³⁺ and arginine by fluorimetry and its applications", *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 425 (August 2021), 113693.

- [12] Kandemir, H., Koçak, A., Tümay, S.O., Çoşut, B., Zorlu, Y., and Şengül, I.F., (2018), "Experimental and theoretical studies of carbazole-based Schiff base as a fluorescent Fe³⁺ probe", *Turkish Journal of Chemistry*, 42 (2), 221–236.
- [13] Kim, K.S., Jeong, S., Kim, C., Ham, J.Y., Kwon, Y., Choi, B.D., et al., (2009), "Synthesis and electro-optical properties of carbazole derivatives for organic device applications", *Synthetic Metals*, 159 (17–18), 1870–1875.
- [14] Padghan, S.D., Puyad, A.L., Bhosale, R.S., Bhosale, S. V., and Bhosale, S. V., (2017), "A pyrene based fluorescent turn-on chemosensor: Aggregation-induced emission enhancement and application towards Fe³⁺ and Fe²⁺ recognition", *Photochemical and Photobiological Sciences*, 16 (11), 1591–1595.
- [15] Shi, B., Su, Y., Zhang, L., Huang, M., Liu, R., and Zhao, S., (2016), "Nitrogen and Phosphorus Co-Doped Carbon Nanodots as a Novel Fluorescent Probe for Highly Sensitive Detection of Fe³⁺ in Human Serum and Living Cells", *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8 (17), 10717–10725.
- [16] Kumar, P., Kumar, V., and Gupta, R., (2015), "Arene-based fluorescent probes for the selective detection of iron", *RSC Adv.*, 5 (118), 97874–97882.
- [17] Duffus, J., (2002), "'Heavy metals' a meaningless term? (IUPAC Technical Report)", *Pure and Applied Chemistry*, 74 793–807.
- [18] Järup, L., (2003), "Hazards of heavy metal contamination", *British Medical Bulletin*, 68 167–182.
- [19] Bakar, C. and Baba A., (2009), "Metaller ve İnsan Sağlığı: Yirminci Yüzyıldan Bugüne ve Geleceğe Miras Kalan Çevre Sağlığı Sorunları", 1. Tıbbi Jeoloji Çalıştay, 30 Ekim-1 Kasım. Ürgüp, Nevşehir, 162-185.
- [20] Yavuz, O. and Sarıgül, N., (2016), "Toprak ve Sucul Ortamlardaki Ağır Metal Kirliliği ve Ağır Metal Dirençli Mikroorganizmalar", *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7 (1), 44–51.
- [21] Deore, A.B., Dhumane, J.R., Wagh, H. V, and Sonawane, R.B., (2019), "A Review on Biological Activity of Heterocyclic Nucleus Carbazole", *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 7 (6), 62–67.
- [22] Patil, S.A., Patil, S.A., Ble-González, E.A., Isbel, S.R., Hampton, S.M., and Bugarin, A., (2022), "Carbazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents", *Molecules*, 27 (19).
- [23] Graebe, C. and Glaser, C., (1872), "First isolation of carbazole from coal tar", *Justus Liebigs Annalen Der Chemie*, 163 (3), 343–360.

- [24] Wu, J., Chen, X., Xie, Y., Guo, Y., Zhang, Q., and Deng, G.J., (2017), "Carbazole and Triarylpyrrole Synthesis from Anilines and Cyclohexanones or Acetophenones under Transition-Metal-Free Condition", *Journal of Organic Chemistry*, 82 (11), 5743–5750.
- [25] Aggarwal, T., Sushmita, and Verma, A.K., (2019), "Recent advances in the synthesis of carbazoles from indoles", *Organic and Biomolecular Chemistry*, 17 (36), 8330–8342.
- [26] Gruzdev, M.S., Chervonova, U. V, Ksenofontov, A.A., Bichan, N.G., and Kolker, A.M., (2021), "Chemical design of carbazole dendrons: Optical properties and DFT analysis", *Optical Materials*, 122 111661.
- [27] Bajad, N.G., Singh, S.K., Singh, S.K., Singh, T.D., and Singh, M., (2022), "Indole: A promising scaffold for the discovery and development of potential anti-tubercular agents", *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 3 (July), 100119.
- [28] Higasio, Y.S. and Shoji, T., (2001), "Heterocyclic compounds such as pyrroles, pyridines, pyrrolidins, piperdines, indoles, imidazol and pyrazins", *Applied Catalysis A: General*, 221 (1–2), 197–207.
- [29] Kumar, S. R. (2020), "A brief review of the biological potential of indole derivatives", *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6 (1).
- [30] Tosun, T., (2020), "İndol-3-karboksialdehit ve indol-5-karboksialdehitten Başlayarak Yeni Tiyadiazol Türevli Schiff Bazlarının Eldesi", *Hitit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı*.
- [31] Rattanopas, S., Piyanuch, P., Wisansin, K., Charoenpanich, A., Sirirak, J., Phutdhawong, W., et al., (2019), "Indole-based fluorescent sensors for selective sensing of Fe 2+ and Fe 3+ in aqueous buffer systems and their applications in living cells", *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 377 (February), 138–148.
- [32] Choe, D., So, H., Park, S., Lee, H., Chae, J.B., Kim, J., et al., (2021), "An indole-based fluorescent chemosensor for detecting zn2+ in aqueous media and zebrafish", *Sensors*, 21 (16), 1–10.
- [33] Skoog, D.A., (1998), "Principles of Instrumental Analysis", Harcourt Brace Collage Publishing, Florida/USA, 5th Edition.
- [34] Gündüz, T., (2002), "İnstrumental Analiz", Gazi Kitap Evi Tic. Ltd. Şti, Ankara, Altıncı Ba 1357 s.
- [35] Tümay, S.O., (2020), "Floresans özellik gösteren fosfazen çekirdekli bileşiklerin sentezi ve sensör özelliklerinin incelenmesi / Synthesis of fluorescent phosphazene compounds and investigation of sensor properties", *Gebze Teknik Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya Ana Bilim Dalı*.

- [36] Braude E. A., (1945), "Studies in Light Absorption. Part I X . T h e Relation between Absorption Intensities and Molecular Dimensions, and its Application to the electronic spectra of polyenes and polycyclic benzenoid hydrocarbons", Journal of Chemical Society, 379–384.
- [37] McGown, L.B. and Warner, I.M., (1990), "Molecular Fluorescence, Phosphorescence, and Chemiluminescence Spectrometry", Analytical Chemistry, 62 (12), 150–155.
- [38] Çınar, Z., (1994), "Kuantum Kimyası", Çağlayan Kitapevi, İstanbul, 210 s.
- [39] Turro, N. J., "Modern Molecular Photochemistry", Benjamin Cumming Publishing Company, New York, 1987 286 s.
- [40] Lacowicz, J.R., (2007), "Principle of Flourescence Spectroscopy", Springer Science, Business Media, 3rd Edition, s. 980.
- [41] Başoğlu, A., (2014), "Azaflavanon-3-ol Bileşiği ile Yeni Bir Spektroflorimetrik Demir Tayini Metodunun Geliştirilmesi", Karadeniz Teknik Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya Ana Bilim Dalı.
- [42] Lacowicz, J.R., (1983), "Principle of Flourescence Spectroscopy", Plenum Pres, New York, 1st Edition, s. 256.
- [43] Gründler, P., (2007), "Chemical Sensors, An Introduction for Scientists and Engineers", Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1st Edition.
- [44] Nagl, S., Wolfbeis, O.S., (2008), "Classification of Chemical Sensors and Biosensors Based on Fluorescence and Phosphorescence", 1st Edition, 325-346.
- [45] Jerónimo, P.C.A., Araújo, A.N., and Conceição B S M Montenegro, M., (2007), "Optical sensors and biosensors based on sol-gel films", Talanta, 72 (1), 13–27.
- [46] Valeur, B. and Leray, I., (2000), "Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition", Coordination Chemistry Reviews, 205 (1), 3–40.
- [47] Valeur, B. and Leray, I., (2001), "PCT (Photoinduced Charge Transfer) Fluorescent Molecular Sensors for Cation Recognition", 187–207.
- [48] Sengul, I.F., Astarci, E., and Kandemir, H., (2016), "Synthesis of Novel Pyrrolo[3,2-c]carbazole and Dipyrrolo[3,2-c:2',3'-g]carbazole Derivatives", Synlett, 27 1277–1281.
- [49] Job, P.M.J., "Formation and Stability of Inorganic Complexes in Solution", Annales de Chimie (France), 9, 113-203.
- [50] Savić, T.D., Šaponjić, Z. V, Čomor, M.I., Nedeljković, J.M., Dramićanin,

M.D., Nikolić, M.G., et al., (2013), "Surface modification of anatase nanoparticles with fused ring salicylate-type ligands (3-hydroxy-2-naphthoic acids): a combined DFT and experimental study of optical properties", *Nanoscale*, 5 (16), 7601–7612.



ÖZGEÇMİŞ

Süleyman Eren KABİL, 2011 yılında başladığı Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünü 2016 yılında başarıyla tamamlayarak 2020 yılında yüksek lisans eğitimine Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda başladı. 2017 yılından beri Arge merkezi ve akredite test kuruluşunda Kimya Mühendisi olarak çalışmıştır. 2022 yılı itibariyle kimyasal üretim yapan özel sektör firmasının Arge merkezinde Enstrümantal Analiz Laboratuvar Sorumlusu olarak çalışmaktadır.

