

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**METAL TÜRLERİNİN TAYİNİ İÇİN KARBAZOL TEMELLİ FLORESANS
SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULAMALARI**



YÜKSEK LİSANS

Sümeyye ARSLAN

**Kimya Anabilim Dalı
Kimya Programı**

HAZİRAN 2022

**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**METAL TÜRLERİNİN TAYİNİ İÇİN KARBAZOL TEMELLİ FLORESANS
SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULAMALARI**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Sümeyye ARSLAN
(190821102)**

**Kimya Anabilim Dalı
Kimya Programı**

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Tahir SAVRAN

HAZİRAN 2022

TEZ ONAYI

Sümeyye ARSLAN tarafından hazırlanan hazırlanan "**Metal Türlerinin Tayini için Karbazol Temelli Floresans Sensörlerin Geliştirilmesi ve Uygulamala**" adlı tez çalışması tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Dr. Öğr. Üyesi Tahir SAVRAN

Jüri Üyeleri

İmza:

Prof. Dr. İbrahim YILMAZ

Doç. Dr. Ahmed Nuri KURŞUNLU

Dr. Öğr. Üyesi Tahir SAVRAN

Tez Savunma Tarihi: 30/06/2022

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Doç. Dr. Ahmet KAYABAŞI
Enstitü Müdürü



BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Sümeyye ARSLAN





ÖNSÖZ

Sunulan bu tez çalışması, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Tahir SAVRAN danışmanlığında tamamlanarak, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında önerileriyle tez çalışmamın yürütülmesinde bana yol gösteren danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Tahir SAVRAN'a,

Deneylem esnasında her türlü bilgisini, tecrübesini ve güler yüzünü eksik etmeyen Dr. Şükriye Nihan KARUK ELMAS hocama,

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Kamil Özdağ Fen Fakültesi Kimya bölümünün sahip olduğu olanaklardan faydalanmamı sağlayan, bilgi ve tecrübelerini eksik etmeyen kimya bölümündeki değerli hocalarıma,

Hayatımın her aşamasında oldukları gibi eğitimim boyunca benden desteklerini eksik etmeyen değerli aileme sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Sunulan tez çalışması, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğünün 15–YL–20 nolu tez projesi ile desteklenmiştir.

Haziran 2022

Sümeyye ARSLAN



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	VII
KISALTMALAR	XI
SEMBOLLER	XIII
ÇİZELGE LİSTESİ.....	XV
ŞEKİL LİSTESİ.....	XVII
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1 Lüminesans ve Floresans.....	3
2.1.1 Floresans olayını etkileyen faktörler.....	4
2.1.2 Uyarılmış molekülün floresans ve diğer durulma prosesleri.....	4
2.2 Analitik Bir Araç Olarak Kolorimetrik ve Floresans	
Sensörler	5
2.2.1 Floresans sensörlerin sınıflandırılması	6
2.2.2 Enerji ve elektron transfer prosesleri	7
2.3 Ağır Metaller.....	12
2.3.1 Civa (II) metali	12
2.3.2 Demir (III) metali	13
2.4 Karbazol Molekülü ve Özellikleri	14
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Analiz Sistemleri	21
3.2 Karbazol Türevi Sensörün (CTH) Sentez ve Karakterizasyon	
Çalışmaları.....	22
3.3 Analitik Sensör Çalışmaları.....	23
3.3.1 Standart metal çözeltileri ve CTH'nin stok çözeltilisinin	
hazırlanması	23
3.3.2 CTH'nin metal iyonlarına karşı spektroskopik özelliklerinin	
incelenmesi.....	24
3.3.3 CTH'nin gerçek numunelerde uygulanabilirliğinin incelenmesi.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
4.1 CTH'nin Sentez ve Karakterizasyonu	27
4.2 CTH'nin Analitik Sensör Performans Sonuçları	33
4.2.1 CTH'nin metal iyonlarına karşı sensör özelliklerine dair sonuçlar	33
4.2.2 CTH'nin Fe ³⁺ metal iyonuna karşı kolorimetrik sensör çalışma	
sonuçları	35
4.2.2.1 CTH'nin Fe ³⁺ ve diğer metal iyonlarına karşı duyarlılık	
çalışma sonuçları.....	35
4.2.2.2 CTH'nin Fe ³⁺ metal iyonuna cevap süresinin tespitine dair	
çalışma sonuçları.....	36
4.2.2.3 CTH'nin Fe ³⁺ yanında diğer metal iyonlarına karşı seçicilik	
çalışma sonuçları.....	37
4.2.2.4 CTH'nin Fe ³⁺ metal iyonu ile titrasyon çalışma sonuçları	38

4.2.2.5 CTH'nin Fe^{3+} metal iyonuna karşı bağlanma sabiti ve algılama limiti değerleri tespit sonuçları.....	38
4.2.2.6 CTH ve Fe^{3+} etkileşiminin kompleks stokiyometrisinin tespitine dair sonuçlar	41
4.2.2.7 CTH'nin gerçek numunelerde Fe^{3+} tespiti için uygulama sonuçları.....	45
4.2.3 CTH'nin Hg^{2+} iyonuna karşı floresans sensör çalışma sonuçları.....	48
4.2.3.1 CTH'nin Hg^{2+} ve diğer metal iyonlarına karşı duyarlılık çalışma sonuçları.....	48
4.2.3.2 CTH'nin Hg^{2+} metal iyonuna cevap süresinin tespitine dair sonuçlar	49
4.2.3.3 CTH'nin Hg^{2+} yanında diğer metal iyonlarına karşı seçicilik çalışma sonuçları.....	49
4.2.3.4 CTH'nin Hg^{2+} metal iyonu ile titrasyon çalışma sonuçları.....	50
4.2.3.5 CTH'nin Hg^{2+} iyonuna cevabında pH etkisine dair sonuçlar	51
4.2.3.6 CTH'nin Hg^{2+} iyonuna karşı bağlanma sabiti ve algılama limiti değerlerinin tespit sonuçları	52
4.2.3.7 CTH'nin Hg^{2+} iyonu ile kompleks sitokiyometrisi tespitine dair sonuçlar.....	55
4.2.3.8 CTH'nin Hg^{2+} gerçek numunelerde tespiti için uygulama sonuçları.....	60
5. SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

CTH	(<i>E</i>)-N'-((9-pentil-9H-karbazol-3-il)metilen)tiyofen-2-karbohidrazit
FL	Floresans
FT-IR	Fourier transform infrared
UV-Vis	Ultraviyole-Visible
IR	İnfrared
LOD	Tespit Limiti
LOQ	Tayin limiti
MS	Kütle spektroskopisi
MALDI-TOF	Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi
NIR	Yakın infrared spektroskopisi
NMR	Nükleer magnetik rezonans
RSD	Bağıl standart sapma



SEMBOLLER

% v	Hacimce yüzde
%	Yüzde
M	Molarite
μM	Mikromolar
nM	Nanomolar
Fe	Demir
Cu	Bakır
Hg	Civa
Ca	Kalsiyum
K	Potasyum
Pb	Kurşun
Cd	Kadmiyum
Zn	Çinko
Ba	Baryum
Al	Alüminyum
Cr	Krom
Sr	Stronsiyum
Mn	Mangan
Mg	Magnezyum
Ni	Nikel
Co	Kobalt



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1 : Lüminesans türleri ve uyarılma prosesleri (Karuk Elmas, 2019).....	3
Çizelge 2. 2 : Karbazol bileşiminin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri	14
Çizelge 3. 1 : Kullanılan analiz sistemleri ve modelleri.....	21
Çizelge 4. 1 : Fe ³⁺ iyonunu tespiti için geliştirilen kolorimetrik ve floresans sensörler ile CTH performansının karşılaştırılması	40
Çizelge 4. 2 : CTH kullanılarak doğal kaynak su numunelerinde Fe ³⁺ metal iyonunu tespiti ve % geri kazanım değerleri	46
Çizelge 4. 3 : CTH kullanılarak doğal kaynak su numunelerinde Fe ³⁺ metal iyonununun tespiti ve elde edilen verilerin AAS yöntemi ile karşılaştırılarak yöntemin üstünlüğünün kanıtlanması.....	47
Çizelge 4. 4 : Hg ²⁺ metal iyonunu tespiti için geliştirilen kolorimetrik ve floresans sensörler ile CTH performansının karşılaştırılması.....	54
Çizelge 4. 5 : CTH kullanılarak doğal kaynak su numunelerinde Hg ²⁺ metal iyonunu tespiti ve % geri kazanım değerleri	61



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1	:Uyarılmış haldeki molekülün temel hale geçişi esnasında meydana gelebilecek prosesler ve floresans olayı (Şahin, 2011).....	5
Şekil 2. 2	: Kolorimetrik ve floresans sensörler	5
Şekil 2. 3	: Floresans cevaplarına göre farklı floresans sensörler	6
Şekil 2. 4	: Floresans sensörlerin sınıflandırılması (Karuk Elmas, 2019).....	7
Şekil 2. 5	: Floresans sensörlerde PET mekanizmasının şematik gösterimi	8
Şekil 2. 6	: Floresans sensörlerde PCT mekanizmasının şematik gösterimi	9
Şekil 2. 7	:Floresans sensörlerde FRET mekanizmasının şematik gösterimi.....	10
Şekil 2. 8	:Floresans sensörlerde LCMT ve MLCT yük atarım geçiş mekanizmalarının şematik gösterimi (Karuk Elmas, 2019).....	11
Şekil 2. 9	: Civa metali	12
Şekil 2. 10	: Demir metali.....	13
Şekil 2. 11	: Karbazol bileşiğinin molekül yapısı.....	14
Şekil 2. 12	: Borsche–Drechsel Siklizasyonu genel şeması	16
Şekil 2. 13	: Borsche–Drechsel Siklizasyonu mekanizması.....	16
Şekil 2. 14	: Bucherer karbazol sentezi genel şeması.....	17
Şekil 2. 15	: Bucherer karbazol sentezi mekanizması	17
Şekil 2. 16	: Graebe–Ullmann Karbazol Sentezi genel şeması	18
Şekil 2. 17	: Graebe–Ullmann Karbazol Sentezi mekanizması.....	18
Şekil 3. 1	: Sensör CTH molekülünün sentez şeması	23
Şekil 4. 1	: CTH molekülünün sentez şeması	27
Şekil 4. 2	: CTH'a ait ¹ H–NMR spektrumu (DMSO–d ₆)	29
Şekil 4. 3	: CTH'a ait ¹³ C–APT NMR spektrumu (DMSO–d ₆).....	30
Şekil 4. 4	: CTH'a ait ATR–FTIR spektrumu	31
Şekil 4. 5	: CTH'a ait MALDI TOF–MS spektrumu.....	32
Şekil 4. 6	: CTH çözücü çalışması sonucu elde edilen emisyon şiddetleri.....	33
Şekil 4. 7	:CTH-Hg ²⁺ kompleks sisteminde artan su oranına göre floresans şiddetleri	34
Şekil 4. 8	:CTH (5 µM) metal iyon duyarlılık çalışması sonucu elde edilen absorpsiyon spektrumları [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	35
Şekil 4. 9	:CTH'ın Fe ³⁺ iyonuna kolorimetrik cevap süresinin tespiti [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].....	36
Şekil 4. 10	:CTH'in (5 µM) farklı metal iyonları varlığında Fe ³⁺ metal iyonuna karşı seçicilik çalışması sonucu elde edilen absorbans maksimumları [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].....	37
Şekil 4. 11	:CTH'in (5 µM) Fe ³⁺ metal iyonu ile (0–1.0 eq.) UV–Vis titrasyon çalışması sonucu elde edilen absorpsiyon spektrumları [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].....	38

Şekil 4. 12	:CTH'in (5 µM) ile Fe ³⁺ iyonunu algılama limiti çalışmasından elde edilen kalibrasyon grafiği [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	39
Şekil 4. 13	:CTH'in (5 µM) ile Fe ³⁺ iyonuna bağlanma sabitinin tespiti için elde edilen Benesi–Hildebrand kalibrasyon grafiği [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	39
Şekil 4. 14	:Job's metodu ile CTH'in Fe ³⁺ iyonu ile kompleks stokiyometrisinin tespiti [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	41
Şekil 4. 15	: CTH-Fe ³⁺ kompleksinin MALDI TOF–MS spektrumu	43
Şekil 4. 16	: CTH-Fe ³⁺ kompleksinin ATR–FTIR spektrumu	44
Şekil 4. 17	: CTH'in Fe ³⁺ iyonu ile tahmini etkileşim mekanizması	45
Şekil 4. 18	:Smartphone uygulaması kullanılarak CTH'in (5 µM) ile Fe ³⁺ metal iyonunu algılama limiti çalışması sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	46
Şekil 4. 19	:CTH (5 µM) metal iyon duyarlılık çalışması sonucu elde edilen floresans şiddetleri [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	48
Şekil 4. 20	: CTH'in Hg ²⁺ iyonuna floresans cevap süresinin tespiti [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	49
Şekil 4. 21	: CTH'in (5 µM) farklı metal iyonları varlığında Hg ²⁺ iyonuna karşı seçicilik çalışması sonucu elde edilen emisyon şiddetleri [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	50
Şekil 4. 22	:CTH'in (5 µM) Hg ²⁺ iyonu ile (0–10.0 eq.) floresans titrasyon çalışması sonucu elde edilen emisyon şiddetleri [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	51
Şekil 4. 23	:CTH'in (5 µM) ile Hg ²⁺ iyonunu algılamasına pH etkisine dair elde edilen çalışma sonucu [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	52
Şekil 4. 24	:CTH'in (5 µM) ile Hg ²⁺ iyonunu algılama limiti çalışması sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	53
Şekil 4. 25	:CTH'in (5 µM) ile Hg ²⁺ iyonunu ile bağlanma sabitinin tespiti için elde edilen Benesi–Hildebrand kalibrasyon grafiği [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	53
Şekil 4. 26	:Job's metodu ile CTH'in Hg ²⁺ iyonu ile kompleks stokiyometrisinin tespiti [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7] [a) CTH b) CTH + Hg ²⁺ (0.5 eq.) c) CTH + Hg ²⁺ (1.0 eq.) d) CTH + Hg ²⁺ (1.5 eq.) e) CTH + Hg ²⁺ (2.0 eq.) f) CTH + Hg ²⁺ (2.5 eq.)]	56
Şekil 4. 27	: ¹ H–NMR titrasyon yöntemi ile CTH'in Hg ²⁺ metal iyonu ile etkileşim mekanizmasının tespiti	57
Şekil 4. 28	:CTH'in Hg ²⁺ iyonu ile tahmini etkileşim mekanizması	57
Şekil 4. 29	:CTH-Hg ²⁺ kompleksinin MALDI TOF–MS spektrumu	58
Şekil 4. 30	:CTH-Hg ²⁺ kompleksinin ATR–FTIR spektrumu	59
Şekil 4. 31	:Test kâğıdı uygulaması kullanılarak CTH'in (5 µM) ile Hg ²⁺ metal iyonunu algılama çalışması [DMF/ H ₂ O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7]	60

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

METAL TÜRLERİNİN TAYİNİ İÇİN KARBAZOL TEMELLİ FLORESANS SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ VE UYGULAMALARI

Sümeyye ARSLAN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Tahir SAVRAN

Haziran, 2022, 71 sayfa

Sunulan tez konusu metal iyonlarına duyarlı, yüksek analitik performansa sahip, farklı dalga boylarında ışımaya yapabilecek özgün kimyasal yapıya sahip karbazol esaslı optik sensör sisteminin hazırlanarak gerçek numunelere uygulama üzerine tamamlanmış oldukça kapsamlı ve sistematik bir çalışmadır. Bu kapsamda, çalışmanın ilk aşamasında detayları yöntem kısmında verilen ve yapısında metal iyonu tayininde kullanılan mekanizmaları gerçekleştirebilecek fonksiyonel gruplara sahip özgün karbazol temelli molekül (**CTH**) başarılı şekilde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Karakterizasyon işlemlerinde ¹H-NMR, ¹³C APT-NMR, ATR-FTIR ve MALDI TOF-MS spektroskopi yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında; sentezlenen sensör molekülünün fotofiziksel özelliklerini belirlemek amacıyla, UV-Vis ve floresans spektroskopisi ile metal iyonlarına duyarlı olup olmadıkları detaylı olarak araştırılmış ve özgün analitik yöntemler geliştirilmiştir. Hazırlanan **CTH** sisteminin metal iyonlarına olan absorpsiyon ve emisyon cevapları incelenerek, sinyallere çözücü etkisi, metal türü, tayin limiti, pH etkisi, cevap süresi ve diğer metallere karşı seçiciliği gibi parametreler incelenmiştir. Spektroskopik çalışmalar neticesinde **CTH**'ın Fe³⁺ metal iyonuna karşı kolorimetrik sensör ($LOD=5.89 \mu M$), Hg²⁺ metal iyonuna karşı ise C=N grup hidroliz reaksiyon mekanizması üzerinden yüksek oranda seçimli floresans yanıt ($LOD=5.10 nM$) verdiği kanıtlanmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise; sentezlenen **CTH**'ın Fe³⁺ ve Hg²⁺ metal iyonları için pratik uygulanabilirlik çalışmaları ise doğal kaynak su numuneleri, test kitleri ve akıllı telefon (Smartphone Free App., Colorimeter) üzerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçların, karbazol temelli floresans sensörleri kapsamındaki bilimsel çalışmalara yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Floresans sensör, Kolorimetrik sensör, Karbazol, Demir, Civa, Akıllı telefon



ABSTRACT

Ms Thesis

DEVELOPMENT OF CARBAZOLE BASED FLUORESCENCE SENSORS FOR DETERMINATION OF METAL SPECIES AND APPLICATIONS

Sümeyye ARSLAN

Karamanoglu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Assistant Prof. Dr. Tahir SAVRAN

June, 2022, 71 pages

The presented thesis is a very comprehensive and systematic study on the preparation and application of a carbazole-based optical probe system, which is sensitive to metal ions, has high analytical performance, and can radiate at different wavelengths, with a unique chemical structure. In this context, in the first stage of the study, a unique carbazole-based molecule (**CTH**) with functional groups that can realize the mechanisms used in metal ion determination in its structure and whose details are given in the method section was successfully synthesized and characterized. ¹H-NMR, ¹³C APT-NMR, ATR-FTIR and MALDI TOF-MS spectroscopy methods were used in the characterization processes. In the second stage of the study; to determine the photophysical properties of the synthesized **CTH** molecule, their sensitivity to metal ions was investigated in detail by UV-Vis and fluorescence spectroscopy, and unique analytical methods were developed. By examining the absorbance and emission responses of the prepared **CTH** system to metal ions, parameters such as solvent effect on signals, metal type, detection limit, pH effect, response time and selectivity against other metals were investigated. As a result of detailed spectroscopic studies, it has been proven that the **CTH** has a colorimetric probe ($LOD=5.89 \mu M$) against Fe³⁺ metal ion and a highly selective fluorescence probe ($LOD=5.10 nM$) against Hg²⁺ metal ion through the C=N group hydrolysis reaction mechanism. In the last stage of the study; practical applicability studies of the synthesized **CTH** for Fe³⁺ and Hg²⁺ metal ions were successfully carried out on natural spring water samples, test kits and Smartphone (Smartphone Free App., Colorimeter). We believe that the results obtained will be a guide for molecular Sensor designer researchers working with carbazole-based molecules.

Keywords: Fluorescent sensor, Colorimetric sensor, Carbazole, Iron, Mercury, Smartphone



1. GİRİŞ

Analizlerin temel ve zaman alıcı aşamalarını bertaraf ederek büyük kolaylık sağlayan, hızlı, zahmetsiz, maliyetsiz ve tayin edilecek analitlere yüksek seçicilik ve hassasiyet gösteren özgün optik sensörlerin tasarımı, son yıllarda büyük ilgi uyandıran ve önemli gelişmeler kaydedilen bir yaklaşımdır. Son yıllarda, ağır metal iyonlarının ciddi çevresel kirliliğe neden olmaları ve besin zinciri yoluyla canlılar üzerindeki toksik etkileri sebebiyle, ağır metallerin tayinine yönelik optik kemosensörlerin geliştirilmesi için büyük çaba sarf edilmektedir (Birimkulova, 2017; Aydın, 2018; Karuk Elmas, 2019).

Endüstriyel ve tarımsal uygulamaların yoğunluğu nedeniyle demir (III) (Fe^{3+}) ve civa (II) (Hg^{2+}) iyonlarının özellikle besin zincirinde biyobirikimi, önemli bir sorun haline gelmiştir. Fe^{3+} yeryüzünde en bol bulunan ağır metal iyonlarından biridir ve canlılar için gerekli bir eser elementtir. Fe^{3+} enzimatik süreçlerde ve DNA/RNA sentezinden elektron transferi ve oksijen metabolizması süreçlerine kadar önemli hücresel metabolizmalarda bir kofaktör olarak hayati bir rol oynamaktadır. Öte yandan Fe^{3+} 'ün fazlalığı canlılar üzerinde toksik etkiye sahiptir ve organ fonksiyon bozuklukları, hepatit, kanser, Parkinson, Huntington ve Alzheimer hastalıkları gibi kritik hastalıklara; Fe^{3+} eksikliği ise anemi, erken ölüm, diyabet, kalp hastalıkları, karaciğer ve böbrek hasarlarına neden olabilmektedir (Savran, 2022; Güngör, 2017). Hg^{2+} en toksik metal iyonlarından biri olarak kabul edilmektedir. Çok düşük konsantrasyonda Hg^{2+} veya bununla ilgili bileşikler bile, hücresel işlev bozukluğuna yol açan tiyolden zengin enzimlere ve proteinlere yüksek afiniteleri nedeniyle canlı sistemlerde biyolojik işlev bozukluğuna, ciddi motor, bilişsel ve merkezi sinir sistemi bozukluklarına yol açabilmektedir. Daha da önemlisi, atık suda veya toprakta bulunan Hg^{2+} suda yaşayan organizmalar tarafından metil-civa formuna dönüştürülmektedir. Vücut için en güçlü nörotoksinlerden biri olarak kabul edilen metil-civa formu, deniz yırtıcıları boyunca besin zincirinde ilerler ve böylece insan organizmalarında çeşitli nörolojik hasar belirtileriyle birikmektedir. Atmosferik birikimden Hg^{2+} 'nin biyo-birikiminin, küresel karbon döngüsü üzerinde etkisi olduğu

düşünülen ağaç yapraklarında ve yosunlarda meydana geldiği iyi bilinmektedir ve bu, bitkilerde terlemeyi ve fotosentezi olumsuz etkilemektedir. Hg^{2+} , Chisso-Minamata hastalığı, hareket ve doğum öncesi beyin hasarları gibi ciddi hastalıklara neden olabilmektedir. Resmi kuruluşlara göre içme suyunda izin verilen maksimum Hg^{2+} seviyesi $10 \mu M$ (0.02 mg/kg)'ın altındadır (Savran, 2022; Güngör, 2017).

Ağır metallerin tayini için son zamanlardaki analitik yöntemler; atomik absorpsiyon spektroskopisi, indüktif olarak eşleştirilmiş plazma-kütle spektrometrisi, kromatografî, potansiyometri, akış enjeksiyon amperometrisi gibi zahmetli, zaman alıcı, pahalı ve karmaşık yöntemlere dayanmaktadır. Bu dezavantajlar nedeniyle, Fe^{3+} ve Hg^{2+} 'nin hassas, uygun maliyetli, seçici, duyarlı ve yerinde tayini için yeni optik sensör sistemlerinin geliştirilmesi için büyük çaba sarf edilmektedir. Literatürde Fe^{3+} ve Hg^{2+} tayini için konuya yönelik rodamin, naftalimid, Bodipy, siklodekstrin, Schiff bazı ve izokumarin gibi farklı organik yapılara dayalı çok sayıda sensör sistemi rapor edilmiştir (Goshisht, 2022). Literatürde Hg^{2+} tayini için "turn-on" floresans ve Fe^{3+} tayini için "kolorimetrik" karbazol molekülü esaslı herhangi bir optik sensöre rastlanılmamıştır. Karbazol bazlı optik sensörlerin yüksek kimyasal stabilite, mükemmel optik özellik, güçlü absorpsiyon ve emisyon özelliği gibi üstün özelliklerinden dolayı yaygın olarak optik sensör dizaynında kullanıldığı bilinmektedir.

Yukarıda belirtilen hususlar dikkate alınarak, sunulan tez çalışmasında metal iyonlarına duyarlı, yüksek analitik performansa sahip, farklı dalga boylarında ışımaya yapabilecek özgün kimyasal yapıya sahip karbazol esaslı optik sensör sistemi hazırlanmış ve gerçek numunelere uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, özgün karbazol temelli molekül (**CTH**) başarılı şekilde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Sentezlenen **CTH** molekülünün fotofiziksel özelliklerini belirlemek amacıyla, UV-Vis ve floresans spektroskopisi ile metal iyonlarına duyarlı olup olmadıkları detaylı olarak araştırılmış ve özgün analitik yöntemler geliştirilmiştir. Spektroskopik çalışmalar neticesinde **CTH**'ın Fe^{3+} metal iyonuna karşı kolorimetrik sensör, Hg^{2+} metal iyonuna karşı ise yüksek oranda seçimli floresans sensör özelliği gösterdiği kanıtlanmıştır. **CTH**'ın pratik uygulanabilirlik çalışmaları ise doğal kaynak su numuneleri, test kitleri ve akıllı telefon üzerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Lüminesans ve Floresans

Elektronik olarak uyarılmış türlerin ultraviyole, görünür bölge, infrared fotonlarının emisyonuna lüminesans adı verilir. Lümen yani ışık anlamına gelen lüminesans ilk olarak, fizikçi ve tarih bilimcisi Eilhardt Wiedemann tarafından 1888 yılında tanımlanmıştır. Uyarılma durumlarına göre lüminesansın farklı türleri **Çizelge 2.1**'de listelenmiştir (Karuk Elmas, 2019; Drummen, 2012).

Çizelge 2. 1: Lüminesans türleri ve uyarılma prosesleri (Karuk Elmas, 2019).

Lüminesans türü	Uyarılma prosesi
Fotolüminesans	Işığın absorpsiyonu
Kemilüminesans	Kimyasal prosesler
Biyolüminesans	Biyokimyasal prosesler
Elektrolüminesans	Elektrik alan
Termolüminesans	Depo edilmiş enerjinin ısıtılması
Radyolüminesans	İyonize ışımaya
Katodlüminesans	Katot ışını
Sonolüminesans	Ultrason
Tribolüminesans	Sürtünme ve elektrostatik kuvvetler

Floresans ve fosforesans, lüminesansın türlerindedir. Uyarılma sırasında fotonların absorpsiyonu, absorpsiyon yapan türlerin uyarılmış hallerini meydana getirir. Fotonların emisyonu, uyarılmış halden temel hale geçmesiyle olur ve bu olaya fotolüminesans (floresans, fosforesans, gecikmeli floresans, kemilüminesans) denir. Bu durum ancak madde ile ışığın etkileşimiyle meydana gelebilmektedir. (Valeur, 2001; Valeur, 1994; Wainwright, 2009).

Floresans; maddenin ışık enerjisini yada diğer elektromanyetik dalga enerjisini absorbe ederek, elektronlarını uyarılmış elektronik enerji seviyesine çıkardıktan sonra tekrar temel hale dönerken yaydığı emisyondur. Floresans soğuk cisimlerde moleküler ışımanın absorblanması ile daha uzun dalga boyunda başka bir ışımanın yayılmasıyla oluşan ışımaya olayıdır. Işın molekül tarafından soğurulmasında, elektron bulunduğu orbitalden daha yüksek enerjili orbitale çıkar ve molekül uyarılmış duruma geçer. Genellikle bu uyarılmış hal kararsız yapıda olduğu için elektron

enerjisini geri vererek başlangıç orbitaline döner. Floresans ışınım, daima absorplanan dalga boyundan daha uzun dalga boylu, yani daha düşük enerjilidir (Özdemir, 2021; Valeur, 2001).

2.1.1 Floresans olayını etkileyen faktörler

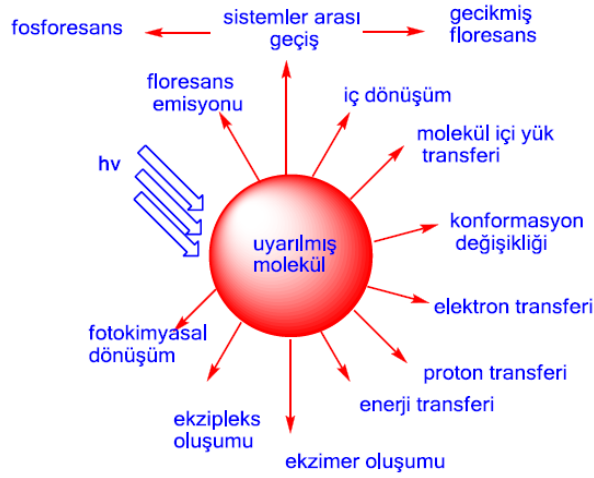
Floresans şiddetinin verimini etkileyen temel faktörler;

- **Moleküler yapı etkisi:** Floresans, çoğunlukla aromatik yada devam eden konjügasyonun bir sonucu olarak, katı hale sahip bileşiklerde gözlenmektedir. Bileşiğin titreşimsel dönme hareketi az, sertliği yüksek olursa; S_1 ve S_0 arasındaki enerji boşluğu artacağı için, floresans olasılığı o kadar artar. Bu şekildeki floresans süreçler, ışınmasız süreçler üzerinde baskındır.
- **Sıcaklık etkisi:** Sıcaklıkta gerçekleşen artış ile çözücü maddenin viskozitesini azaltır. Sıcaklıktaki bu artış moleküler hareketlerde veya çarpışmalarda artışa neden olacağından, floresans ışığında azalma gözlenir.
- **Çözücü Etkisi:** Çözücünün, floresans emisyonu üzerinde farklı durumlar gerçekleştirdiği bilinmektedir. Örneğin, spin orbital eşleşmesi ihtimalindeki artışa bağlı olarak, ağır atomlar içeren çözücüler içinde, floresans yoğunluğu azalabilir, bu da floresansda artışa neden olabilmektedir. Organik moleküller uyarıldığında polaritesi artar. Bu da optik malzeme ile moleküler ortamdaki etkileşimin artmasına neden olarak enerji kaybına sebep olmaktadır.
- **Viskozite etkisi:** Floresans olayında çözücülerin viskozitesi uyarılmış haldeki molekül ve çözücü molekülleri arasındaki çarpışmaları etkileyebilir. Viskoz çözeltilerde, moleküler çarpışmalar azalır ve bu da enerji aktarımını azaltır buna bağlı olarak, moleküler çarpışmalar azalacağı için, enerji kaybı azalır ve floresans daha fazla yükselir (Deshpande, 2001; Rendell, 1987).

2.1.2 Uyarılmış molekülün floresans ve diğer durulma prosesleri

Uyarılan molekül, ışığın absorpsiyonunun ardından sistemler arası geçiş (fosforesans emisyonu), konformasyonel değişiklik, iç dönüşüm (temel hale floresans emisyonu olmadan direk dönüş) ve molekül içi yük transferi gibi farklı yollar izleyerek ve floresans emisyonu yayarak temel hale geri dönüş yapmaktadır. Bu durumun haricinde, uyarılmış seviyede diğer moleküllerle etkileşim yaparak da (enerji

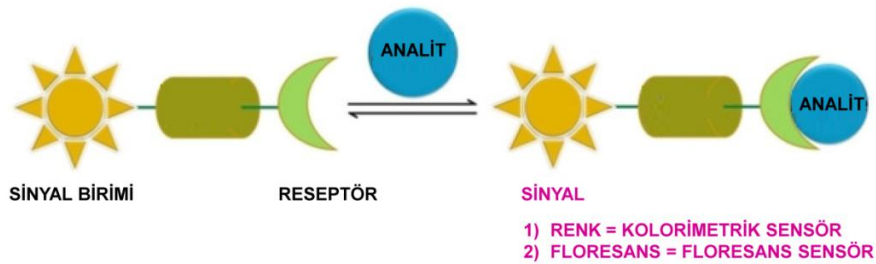
transferi, elektron transferi, eksimer oluşumu yâda proton transferi) temel hale dönüş yapabilmektedirler (Şekil 2.1) (Valeur, 2001; Guliyev, 2008; Şahin, 2011).



Şekil 2. 1: Uyarılmış haldeki molekülün temel hale geçişi esnasında meydana gelebilecek prosesler ve floresans olayı (Şahin, 2011).

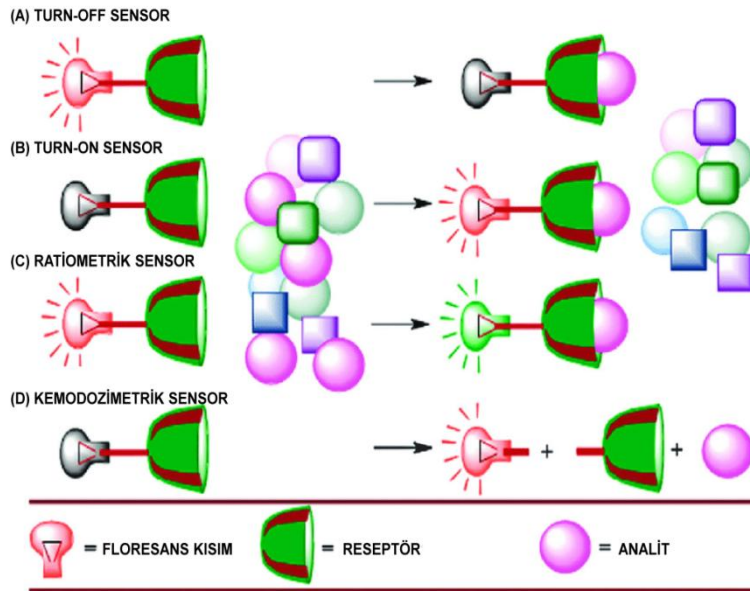
2.2 Analitik Bir Araç Olarak Kolorimetrik ve Floresans Sensörler

Metal iyonlarının biyolojik numunelerde ya da çevrede tespiti ve miktarının belirlenmesine yönelik yeni analiz yöntemlerinin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir (Şekil 2.2) (Newman, 2011; Zhang, 2011). Metal iyonlarının tespitine yönelik uygulamada olan yöntemler; atomik absorpsiyon spektrometrisi (AAS), indüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektrometrisi (ICP–MS), elektrokimya ve kromatografi gibi yöntemleri içermektedir (Chen, 2010; Qiong, 2006). Ancak uygulamada olan yöntemler karmaşık numune hazırlama yöntemleri, maliyet, kimyasal kullanımı, uzman analizci müdahalesi ve uzun analiz süreleri gerektirmektedir. Emisyon şiddeti değişimine bağlı geliştirilen sensör sistemlerinde ise; yüksek seçicilik, hassasiyet, kısa analiz süresi ve düşük tespit limiti ile yerinde tayin avantajlarına sahiptir (Lakowicz, 1999; Powe 2010).



Şekil 2. 2: Kolorimetrik ve floresans sensörler.

Tasarlanan floresans sensör sistemleri, ilk yıllarda metal iyonlarının tespitine yönelik iken, şimdilerde pek çok nötr veya anyonik türlerin yanısıra çevresel ve biyolojik olarak önemli birçok analiti içerecek şekilde yönelik de uygulanmaktadır. Özellikle, biyolojik ve çevresel olarak önemli küçük nötr-moleküller ve biyomakromoleküller (*proteinler, DNA, vb.*) için floresans sensörler büyük gelişim göstermiştir (Oğuz Tümay, 2020). Spektrofotometrik analiz, çok düşük konsantrasyonlarda bile algılanıp ve kullanılabilmesi nedeniyle etkin bir sensör oluşturmak için önemli yöntemler arasındadır. Floresans sensör, kimyasal sensörlerin içerisinde en etkili ve en önemli sensörlerden biridir (Şekil 2.3). Bu, hedef iyon ve moleküllerin organizma içinde görüntülenmesi ve gözlenmesinde en başarılı yöntemler arasındadır (Özdemir, 2021).



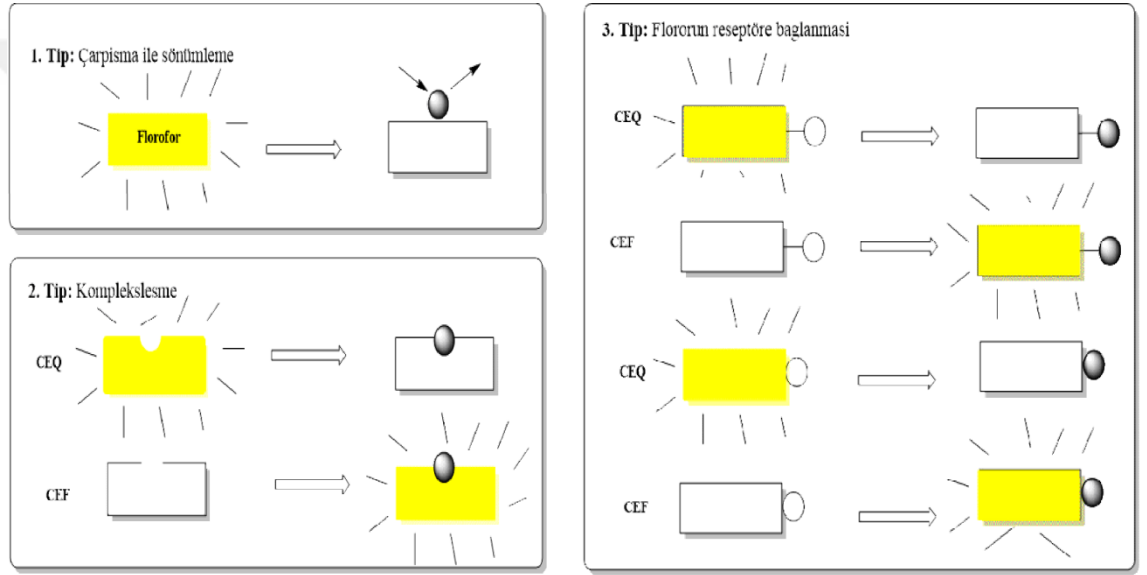
Şekil 2. 3: Floresans cevaplarına göre farklı floresans sensörler.

2.2.1 Floresans sensörlerin sınıflandırılması

Floresans moleküler sensörleri genel olarak üç grupta toplayabiliriz (Şekil 2.4-2.8).

- ✓ **I. Grup:** Floroforun bir analitle çarpışmasıyla, sahip olduğu floresans ışığının sönümlenmesi (Ör. O₂, Cl₂ gibi gaz molekülleri).
- ✓ **II. Grup:** Analit ile florofor arasında tersinir bir ilişki söz konusudur. Analit eğer iyon ise floresans şelatlama, proton ise pH indikatörü tanımlaması kullanılmaktadır. Floresans ışığı, kompleksleşme ile artabilir (CEF tipi: Floresansın Şelatlanma ile Artması) ya da florofor ile analit arasındaki bağlanma ile sönümlenebilir (CEQ tipi: Floresansın Şelatlaşma ile Sönümlenmesi).

✓ **III. Grup:** Sensör ile florofor arasında boşluk bulunmasını veya sensörün florofora direk olarak bağlandığı molekülleri ifade etmektedir. Bir sensör tarafından molekül veya iyon tanımaya dayanan bu tür sensörlerin tasarımı, afinite ve seçicilik kriterlerini yerine getirmek için özel dikkat gerektirmektedir. Florofora bağlı olan analit ile etkileşimi sonucunda meydana gelen yük aktarımı, fotofiziksel değişiklikler, enerji transferi, eksimer oluşumu, elektron transferi ya da kaybolması gibi foto-indüklenmiş proseslerden kaynaklanmaktadır. Eğer bir iyon sensörü tasarlanmış ise moleküler sensör floroiyonofor, sensöre ise iyonofor olarak tanımlanmaktadır. Etkileşim sonucu floresans şiddeti sönmülenebilir veya artabilir (**Şekil 2.4**) (Karuk Elmas, 2019).



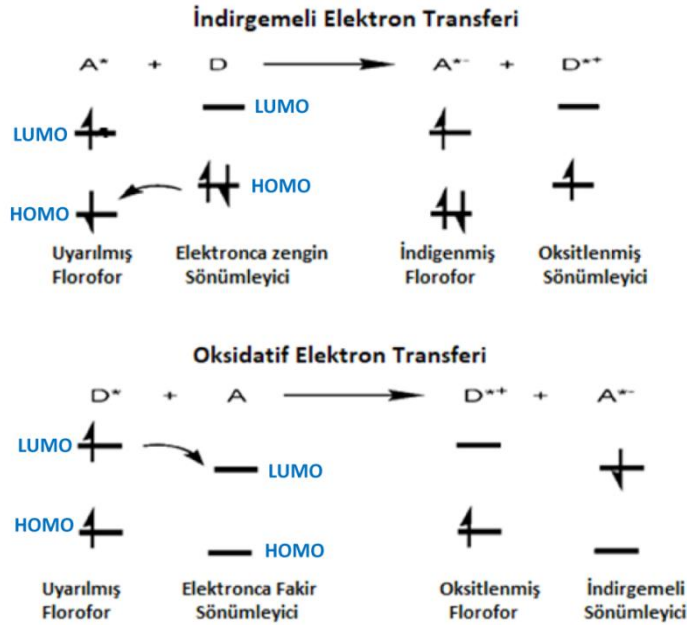
Şekil 2. 4: Floresans sensörlerin sınıflandırılması (Karuk Elmas, 2019).

2.2.2 Enerji ve elektron transfer prosesleri

Bir metal iyonunun iyonofor grup ile bağlanmasının ardından floresans sensörün emisyon şiddeti azalabilir [şelat oluşumu ile floresansın sönmülenmesi (CHEQ)] veya artabilir [şelat oluşumuna dayanan artmış floresans (CHEF)]. Her iki mekanizmada floroforun floresans bandında maviye ya da kırmızıya kaymaya sebep olabilmektedir. Tayin sırasında ortamda bulunan moleküler oksijen, hemen hemen tüm floroforların floresans sinyalini azaltabilmektedir, bu sebeple güvenilir sonuçlar elde etmek için ortamdan çözülmüş oksijenin uzaklaştırılması gerekmektedir.

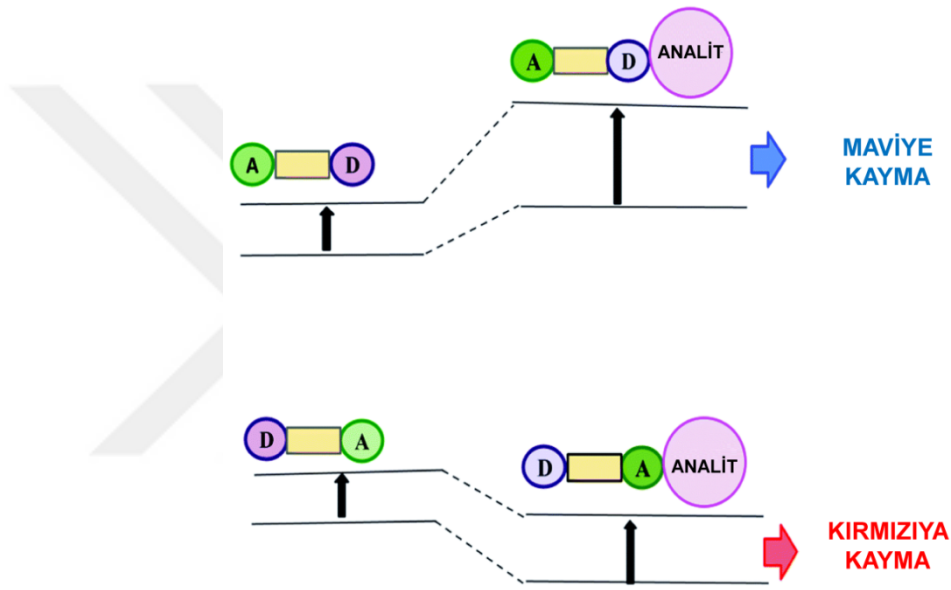
Floresans emisyon değişimi için önerilen temel mekanizmalar kısaca özetlenmiştir:

▪ **Işına dayalı elektron transferi (PET):** Donör atomlar (eşleşmemiş elektron çifti içeren atomlar, N, O, S ve P gibi) ile uyarılmış haldeki floroforun HOMO enerji seviyesi arasında elektron transferini ifade etmektedir (**Şekil 2.5**). Floresans sensörün florofor kısmı uygun dalga boyundaki ışın ile uyarıldığında, HOMO enerji seviyesindeki bir elektron LUMO enerji seviyesine geçmektedir. Bu durumda iyonofor kısmında mevcut donör atomun HOMO enerji seviyesindeki bir elektron, floroforun HOMO enerji seviyesine geçiş yapar. Floroforun HOMO enerji seviyesinde mevcut ve eşlenerek floresans emisyonu neden elektron, floroforun LUMO enerji seviyesinden HOMO enerji seviyesine transfer olamaz. Bu durumun sonucunda; emisyon şiddetinde azalma yani sönümlenme meydana gelir. İyonofor yapısına metal iyonu bağlandıktan sonra donör atomun HOMO enerji seviyesi, floroforun HOMO enerji seviyesinden daha düşük enerjili hale geçer yani PET mekanizması inhibasyonu gerçekleşir. Bu durumda, floroforun LUMO enerji seviyesinde mevcut uyarılmış elektron fazla enerjisini floresans ışına yoluyla kaybeder ve HOMO enerji seviyesine geçiş yapar. PET mekanizması büyük oranda çözücü polaritesi ile ilişkili olduğu için, çözücünün yüksek polaritesi elektron transferini kolaylaştırmakta ve sönümlenme hızını artırır. PET inhibasyon mekanizmasıyla tepki veren sensörler, hedef tür ile bağlandığında genellikle floresans bandında kayma göstermezler (Oğuz Tümay, 2020; Karuk Elmas, 2019).



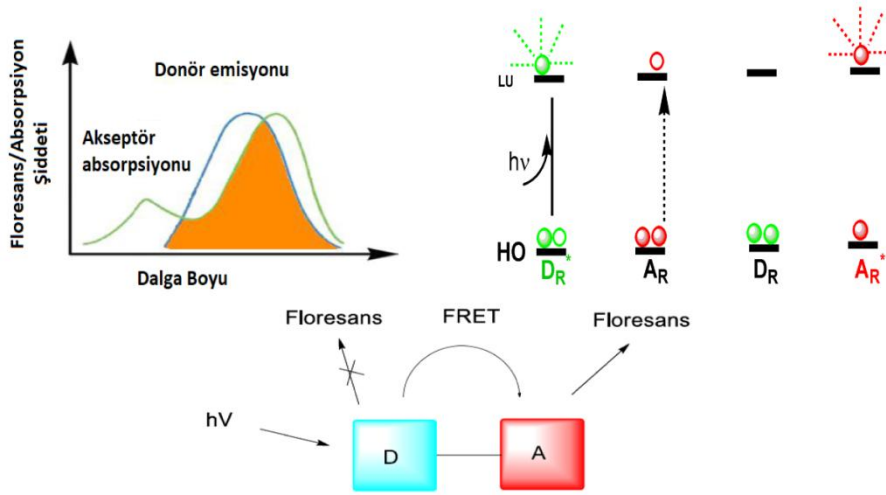
Şekil 2. 5: Floresans sensörlerde PET mekanizmasının şematik gösterimi.

▪ **Işığa dayalı yük transferi (PCT):** Elektron akseptörü ve donörü arasında meydana gelen elektron transfer türü olarak bilinmektedir (Şekil 2.6) ve bu mekanizmaya dair sensörler tamamen π -konjuge sistemin kısmi yük aktarımını kapsamaktadır. Florofordan bir bağlayıcı grup ile ayrılan iyonofor kısmına sahip PET sensörlerinin tersine, bütünleşik bir iyonofor ve florofor içermektedirler ve metal iyonunu ile etkileşim elektron enerji seviyelerinde değişimine (*floresans azalması/artması ya da dalga boyunda değişim*) neden olmaktadır (Valeur, 2000). Bu tür etkileşimler, sensör sisteminin kuantum verimini etkilemektedir (Oğuz Tümay, 2020; Karuk Elmas, 2019).



Şekil 2. 6: Floresans sensörlerde PCT mekanizmasının şematik gösterimi.

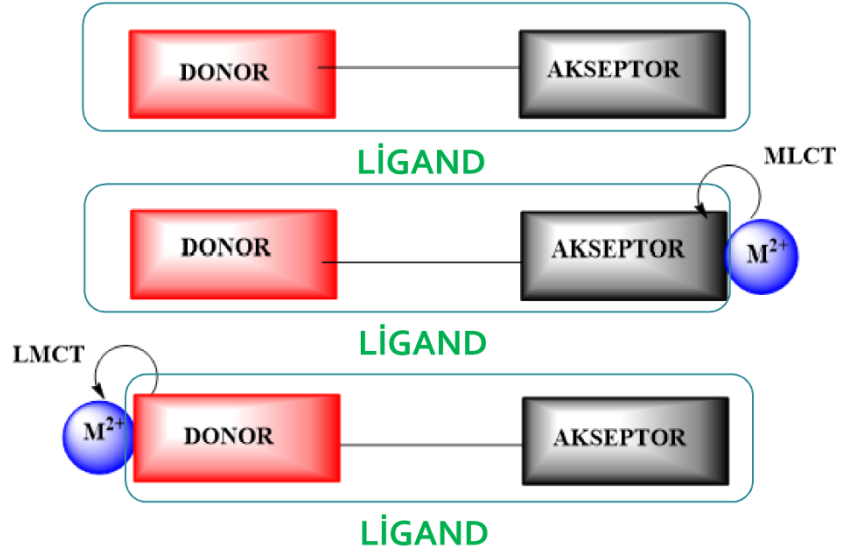
▪ **Floresans rezonans enerji transferi (FRET):**FRET prosesi floroforun uyarılmış haldeki donör grubun enerjisinin, floforun temel haldeki akseptörüne transferi ile gerçekleşmektedir (Şekil 2.7). FRET mekanizması, birbirine bağlı olan donör akseptör çiftinin iki kriteri karşılanmasıyla gerçekleşir. İlki, donörün floresans emisyon spektumu ile akseptörün absorbanans spekturumunun üst üste örtüşmesi gerekliliğidir. İkincisi ise, donör akseptör arasındaki en uygun mesafe (Förster mesafesi) yaklaşık $20-60\text{\AA}$ olması gerekmektedir (Miyawaki, 2011; Oğuz Tümay, 2020; Lakowicz, 2006; Dehmelt ve Bastiaens, 2010).



Şekil 2. 7: Floresans sensörlerde FRET mekanizmasının şematik gösterimi.

▪ **Eksimer oluşum prosesi:** Aromatik halkaların zayıf etkileşimleri (Van der Waals etkileşimi), uyarılmış seviyede "eksimer" veya "dimer" olarak tanımlanan komşu halka ile etkileşimin artışı, halkalardan birinin elektronik olarak uyarılmasına neden olmaktadır. Daha uzun dalga boyunda geniş bir bant halinde eksimer bandı ve bir monomer bandı olmak üzere iki floresans bandı gözlenmektedir. Eksimer ve monomer emisyonuna bağlı sinyal şiddetinin oranı, viskoziteye ve moleküler hareketliliğine bağlıdır (Şahin 2011; Valeur, 2000; Kim, 2007).

▪ **Metal ligand ve ligand metal ligand yük transferi (MLCT ve LCMT):** Fotokimya en önemli yaklaşımlarından biri kromoforların uyarılmış halden temel hale geçişteki faktörleri anlamaktır. Bunlardan biri metalden liganda ve ligandan metale yük aktarım geçişleridir. Bu yük aktarımı enerji ve elektron transferi ile metalin d orbitalinden uyarılmış florofora geçişiyle gerçekleşir. Böylece floroforun floresanı sönümlenir. İkinci durum ise floroforun sahip olduğu floresans emisyonunun, metal ile florofor etkileşimi sonucu meydana gelmesidir (Şekil 2.8) (Karuk Elmas, 2019).



Şekil 2. 8: Floresans sensörlerde LCMT ve MLCT yük atarım geçiş mekanizmalarının şematik gösterimi (Karuk Elmas, 2019).

2.3 Ağır Metaller

Yoğunluğu 5 g/cm^3 '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 (Duffus, 2002; Järup, 2003). Ağır metaller iki gruba ayrılır: yaşamsal ağır metaller ve yaşamsal olmayan ağır metaller. Burada belirleyici faktör, belirtilen ağır metalin biyolojik bir sürece katkı sağlayıp sağlayamamasıdır. Ağır metallerin etki mekanizmalarını, metalin doz miktarı belirlemektedir (Bakar ve Baba, 2009; Yavuz ve Sarıgül, 2016). Ağır metallerin çevreye salınımları, ya doğal kaynaklardan ve yollardan (*volkanik olaylar, depremler ve madeni kayaçlar*) ya da insan faktörüyle (*sanayileşime ve diğer faaliyetlerin sonucu*) gerçekleşmektedir. Ağır metallerce kirletilen hava, su ve toprak kaynakları beslenme/gıda zincirini oluşturan her türlü canlıyı etkilemekte, dolayısıyla insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Erkmen, 2010).

2.3.1 Civa (II) metali

Atom numarası 80, atom ağırlığı $200,6 \text{ g mol}^{-1}$, yoğunluğu $13,6 \text{ g cm}^{-3}$, erime noktası $-13,6 \text{ °C}$ ve kaynama noktası 357 °C olan oda koşullarında tek sıvı metaldir (Şekil 2.9). Civa metali, doğal olarak oluşmakta ve genellikle cevher işlemenin bir yan ürünü olarak geri kazanılmaktadır. Bu nedenle civa metali, ortamdaki en toksik ve tehlikeli ağır metallerden biri olarak kabul edilmektedir.



Şekil 2. 9: Civa metali.

Akışkan gümüş anlamına gelen civa (Hg), oda koşullarında sıvı halde bulunan, suda çözünmeyen, suya oranla yaklaşık 14 kat ve havaya oranla 7 kat daha yoğun olan bir ağır metaldir. Civa, plastik üretiminde katalizör olarak, barometre ve termometre gibi

ölçüm aletlerinde, çimento sanayisinde, elektrik ve madencilikte, kâğıt ve boya endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanım alanlarının yaygınlığı çevresel kirlenmeye sebep olmaktadır. Su ve diğer gıdalar yoluyla canlıların, civaya maruz kalmalarına neden olmaktadır. Metalik civa insan vücuduna geçtiğinde, kan dolaşımı yoluyla beyin başta olmak üzere tüm hayati organ ve dokularda yıkıcı etkiler göstermektedir. Sinir sistemi, deri, solunum sistemi, böbrekler ve özellikle karaciğer ciddi şekilde olumsuz etkilenmektedir (Özbolat ve Tuli, 2016).

2.3.2 Demir (III) metali

Atom numarası 26, atom ağırlığı 55,845 olan $7,8 \text{ g cm}^{-3}$ yoğunluğunda, erime noktası $1535 \text{ }^\circ\text{C}$ 'dir (Şekil 2.10). Gümüşümsü gri renkte olan demir, parlak, genleşebilen ve işlenmeye çok yatkın metalik bir elementtir. Demirin ana kaynağı hematit ve manyetit mineralleridir. Takonit, limonit ve siderit mineralleri de diğer önemli kaynaklardır. Yer kabuğunun en bol dördüncü elementi (56,300 ppm) olan demir, metaller arasında en bol ve en ucuz olanıdır. Yer kabuğunun yaklaşık % 5,6'sını ve dünyanın çekirdeğinin büyük bir bölümünü oluşturur.



Şekil 2. 10: Demir metali.

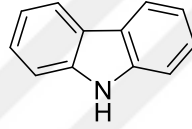
Doğal olarak toprakta bulunan demir akarsular, nehirler ile deniz ve göllere taşınmaktadır. Fabrika atıklarındaki, kimyasal maddelerin temizlenmesi ile oluşan demir, kanalizasyonlar yoluyla deniz ve göllere taşınarak, sucul ortamda demir birikimlerine sebep olmaktadır. Demir sülfatın suda çözünmesi, su içinde birikimlere neden olması açısından önemlidir.

Her türlü demir, teneke ya da metal parçaları denize atıldığında zamanla demir oksit şekline dönüşmekte ve çökerek çamur ile dipte birikmektedir. Zamanla çamur içinde yaşayan bakteriler tarafından oksitlenen demir oksitler, çeşitli oksidasyon

kademelerinde parçalanarak farklı organik moleküllere bağlanmaktadır. Demir çelik sanayinin ana hammaddesi olarak, insan ve hayvan yaşamının en önemli parçası olan hemoglobinin yapısında, demir oksitleri boya endüstrisinde pigment olarak, saf olarak demir; karbon ve diğer metallerle alaşım şeklinde, inşaatlarda beton, kiriş gibi yüzeylerin sağlamlaştırılmasında kullanılır (Tuncay, 2007).

2.4 Karbazol Molekülü ve Özellikleri

Karbazol, iki benzen halkası ve bir pirol halkası içeren, molekül formülü $C_{12}H_9N$ olan heterohalkalı aromatik organik bir bileşiktir (Şekil 2.11). Karbazol ilk defa Graebe ve Glaser tarafından 1872 yılında kömür katranından izole edilerek keşfedilmiştir (Bouaziz, 2014; Çağlı, 2014; Özgün, 2016; Erden, 2018).



Şekil 2. 11: Karbazol bileşiğinin molekül yapısı.

Karbazol $C_{12}H_9N$ genel formülüne sahip, oldukça zayıf bazik özellik gösteren bir bileşiktir. Karbazol'ün bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2. 2: Karbazol bileşiğinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.

Kimyasal Adı	9H-Karbazol
Molekül formülü	$C_{12}H_9N$
Molekül ağırlığı	167,2 g/mol
Erime noktası	246,3 °C
Kaynama Noktası	345,7 °C
Yoğunluk	1,3 g/cm ³
Fiziksel görünüm	Kirli beyaz toz kristal

Karbazol; asetik asit, etanol, benzen, toluen ve asetondan beyaz renkte kristallenen bir madde olup yarı iletken özelliği gösterdiği bilinmektedir. Karbazolün pek çok organik çözücüde ve sıcak alkolde çözüldüğü ancak suda çözünmediği literatürlerde belirtilmiştir (Hammond, 2009). Turunçgillerin kabuklarından ve kömür katranından antrasen eldesinde yan ürün olarak meydana gelen karbazol, UV (ultraviyole) ışığına maruz kaldığında kuvvetli floresans etkisi gösterir. Bu da karbazolün fotoğrafik

levhaların yapımında ve boya üretiminde sıkça kullanılmasına neden olmaktadır (Çağlı, 2014; Özgün, 2016; Erden, 2018).

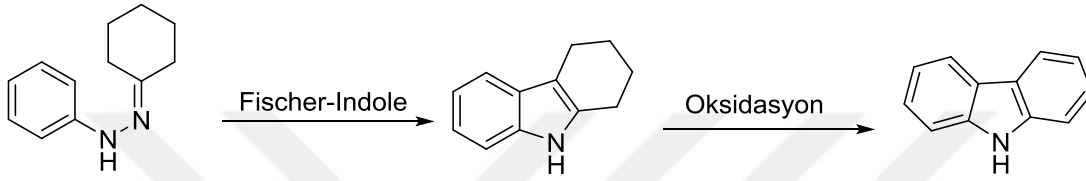
Karbazol'ün tercih edilme nedenleri ve kullanım alanları aşağıda verildiği gibidir;

- Elde edilmesi kolay olduğu için çok kullanılan bir bileşiktir.
- Karbazoller optik, elektriksel özellikler ve çözünürlüğü artırmak istendiğinde kolayca uyarlanabilir.
- Kimyasal açıdan kararlı bir yapıya sahiptir.
- Farklı sübstitüentlerin karbazol halkalarına eklenme reaksiyonları kolay yürümektedir.
- Karbazol grupları, kararlı radikal katyonları oluştururlar.
- Karbazol içeren bileşikler yüksek termal ve foto kararlılığa sahiptirler (Çağlı, 2014; Özgün, 2016; Erden, 2018).

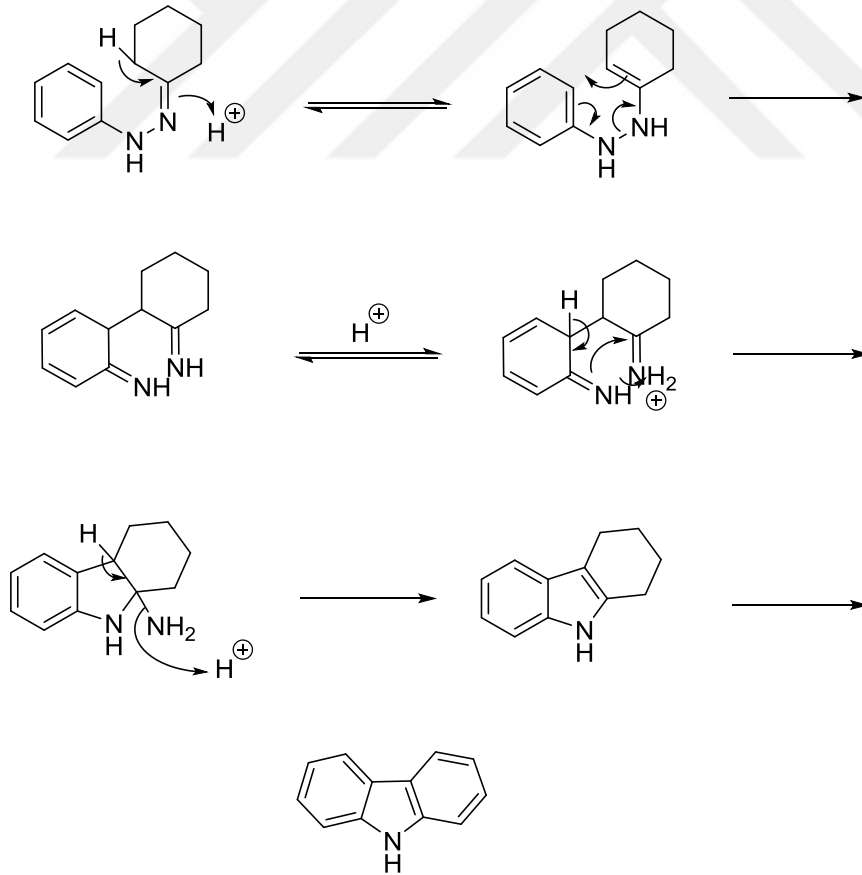
Karbazolü saf olarak elde etmek kolay değildir. Bu süreçte oluşan çeşitli safsızlıklar yöntemi zorlaştırdığı için karbazol, en saf hali ile laboratuvar ortamında elde edilir. Yapay olarak ilk eldesi 1858 yılında gerçekleştiği literatürde verilmektedir (Drechsel, 1858). Sonraki yıllarda farklı yöntemlerle karbazol ve türevleri sentezlenmiştir. Karbazollerin sentez yöntemleri olarak kullanılan yaygın yöntemler arasında Borsche–Drechsel Siklizasyonu, Graebe–Ullmann Reaksiyonu ve Fischer İndolSentezi yer almaktadır ve bu yöntemler aşağıda kısaca açıklanmaktadır. Karbazolün bitkilerden izolasyon yoluyla saf olarak ayrıştırması zor olduğu için, laboratuvar ortamında sentezlenmesi önemlidir. Karbazol halkasının sentetik olarak eldesi için üç genel yöntem vardır;

1. Borsche–Drechsel Siklizasyonu
2. Bucherer Karbazol Sentezi
3. Graebe–Ullmann Karbazol Sentezi (Li, 2009; Çağlı, 2014; Özgün, 2016; Erden, 2018).

Borsche–Drechsel Siklizasyon Reaksiyonu: Borsche karbazol sentezi olarak da bilinen Borsche–Drechsel Siklizasyonu, fenil hidrazin ve sikloheksanon türevlerinin iki basamakta karbazol halkasına dönüşmesi reaksiyonudur (Şekil 2.12 ve 2.13) (Li, 2009). Fischer–indol Sentezini andıran ilk adım, fenil hidrazin ve sikloheksanonu tetrahidrokarbazole dönüştürür. Sonraki adımda ise tetrahidrokarbazolün karbazole yükseltgenmesini içermektedir. Reaksiyonun mekanizması Şekil 2.12 ve 2.13’de gösterilmiştir. Borsche karbazol sentezi Dracshel ve Borsche tarafından keşfedilmiş ve reaksiyon 50 yılı aşkın bağımsız bir çalışmanın sonunda optimize edilmiştir (Li, 2011; Çağlı, 2014; Özgün, 2016; Erden, 2018).

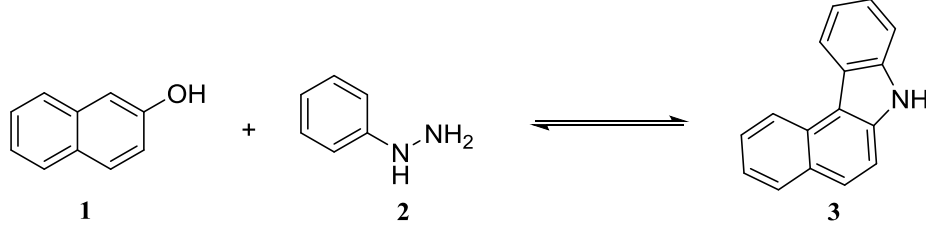


Şekil 2. 12: Borsche–Drechsel Siklizasyonu genel şeması.



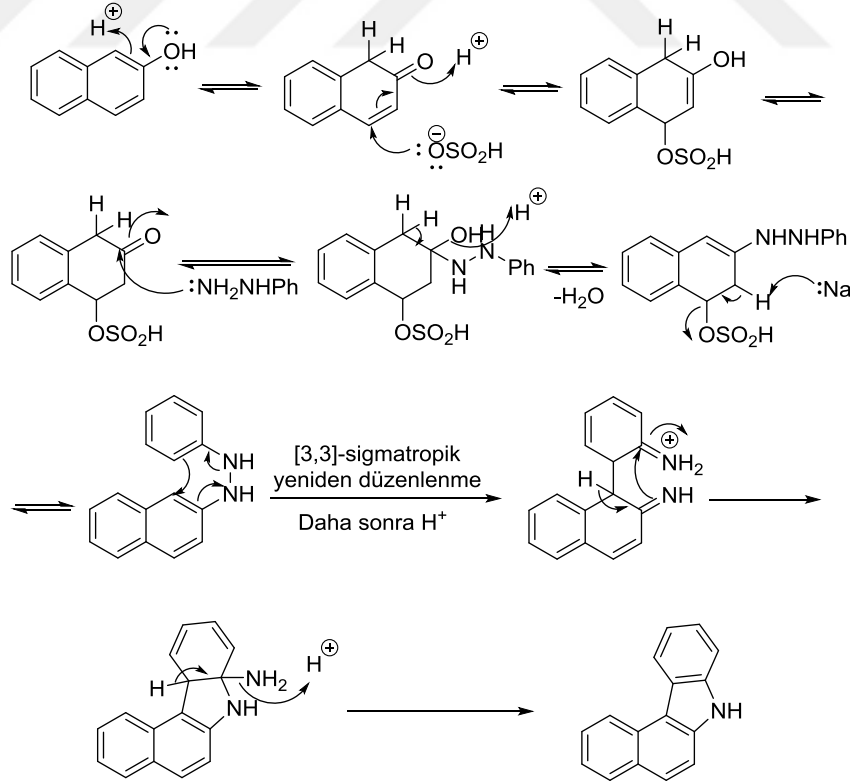
Şekil 2. 13: Borsche–Drechsel Siklizasyonu mekanizması.

Bucherer Karbazol Sentez Reaksiyonu: Bucherer Karbazol Sentezi, bir naftil alkol veya naftilamin bileşiğinin sulu sodyum bisülfat (NaHSO_3) varlığında fenilhidrazin ile muamele edilmesi ve ardından ortamın asitlendirilerek benzo[a]karbazol veya benzo[c]karbazol oluşumu ile gerçekleşir (Şekil 2.14 ve 2.15).



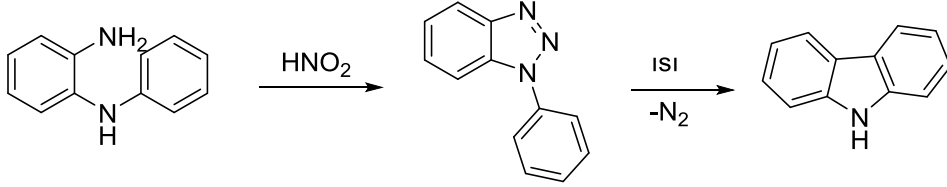
Şekil 2. 14: Bucherer karbazol sentezi genel şeması.

Bucherer karbazol sentezi ilk defa 1 numaralı bileşiğin sodyum hidroksit (NaOH), sodyum bisülfat (NaHSO_3) ve fenilhidrazinin (2 numaralı bileşik) varlığında ısıtılması ve daha sonra asitlendirilmesi sonucu 3 numaralı benzokarbazol ürününün oluşması ile ısıtlanmıştır (verim \sim %70). 2-naftol kullanıldığında reaksiyon oldukça yavaştır ve reaksiyon verimi $130\text{ }^\circ\text{C}$ 'da günler boyu süren reaksiyon sonunda ancak %46 olmuştur (Li, 2005; Çağlı, 2014; Özgün, 2016; Erden, 2018).



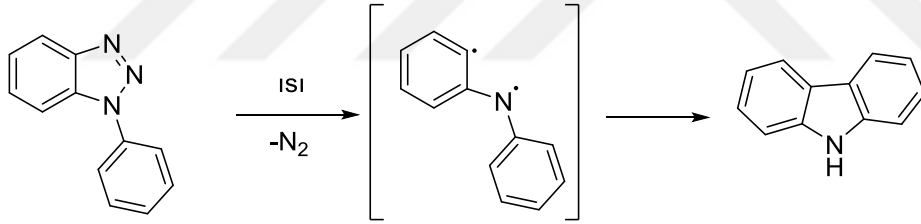
Şekil 2. 15: Bucherer karbazol sentezi mekanizması.

Graebe–Ullmann Karbazol Sentez Reaksiyonu: Bir triazolün karbazol bileşimini oluşturmak üzere termal olarak bozunması Graebe–Ullmann Reaksiyonu olarak kabul edilir. Graebe ve Ullmann 1896 yılında 2–aminodifenilamin ve nitroz asitin reaksiyonu sonucu oluşan benzotriazolün termolizi sonucu karbazolün oluştuğunu bildirdiler (Şekil 2.16 ve 2.17).



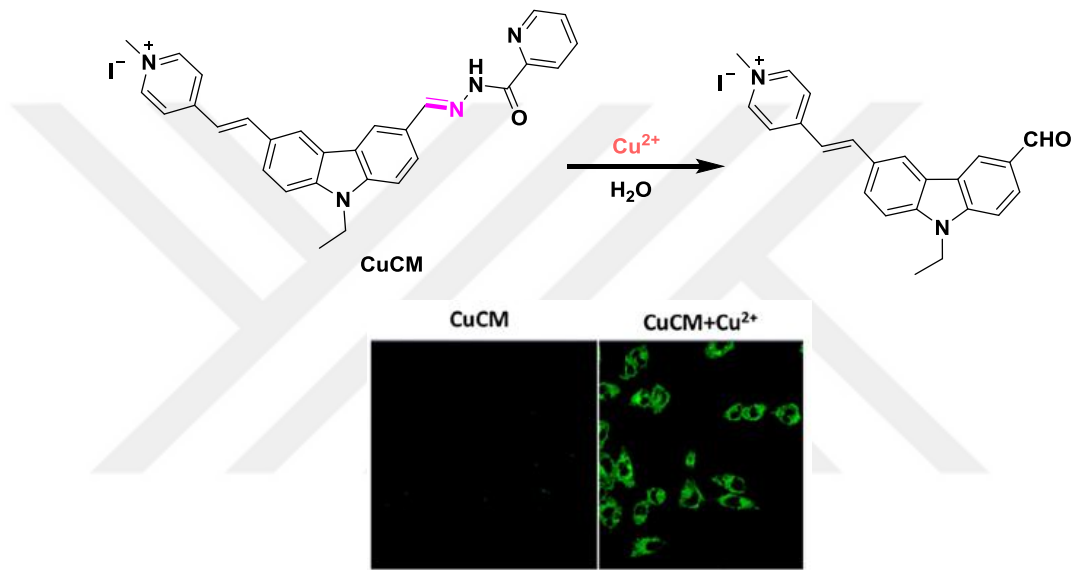
Şekil 2. 16: Graebe–Ullmann Karbazol Sentezi genel şeması.

Graebe–Ullmann karbazol sentezinin reaksiyonunun mekanizması hakkında çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Triazol bileşiminin termolizinin radikalik bir ara ürün üzerinden ilerlediği tahmin edilmektedir. Graebe–Ullmann karbazol reaksiyonu genellikle kapalı sistemlerde ve yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilir (Çağlı, 2014; Özgün, 2016; Erden, 2018).

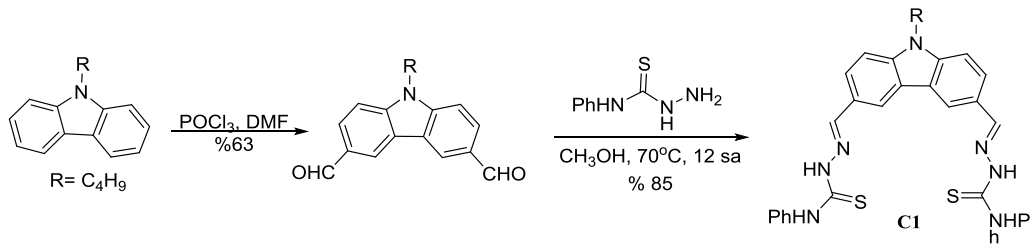


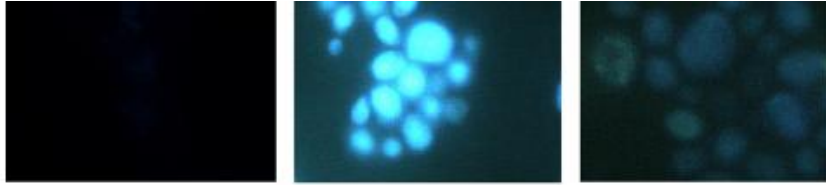
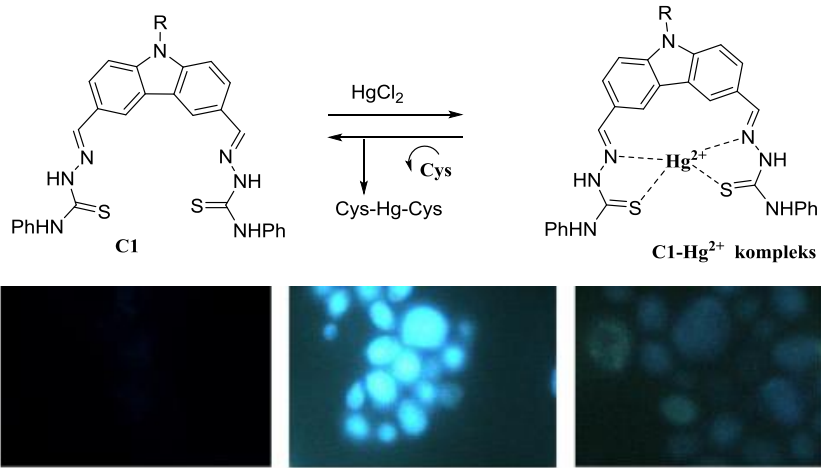
Şekil 2. 17: Graebe–Ullmann Karbazol Sentezi mekanizması.

2016'da yapılan çalışmada, Cu^{2+} 'a "turn-on" yanıt veren piridinyum ve hidrazid birimlerini içeren karbazol içerikli sensör tasarlanmıştır. Prob, Cu^{2+} ilavesiyle floresans artışı sergilemiştir. Tanıma reaksiyonu, Cu^{2+} 'nin öncelikle probun oksijen ve nitrojen atomları ile koordine olacağı bir mekanizmaya maruz kalabilir ve daha sonra ICT'ye eşlik eden aldehiti sağlamak için hidrolize edildiği ifade edilmektedir. Dahası, tasarlanan CuCM sensörü diğer metal iyonlarına karşı etkisiz olduğu ve çeşitli pH değerlerine doğru floresansta hiçbir ayırt edilebilir değişiklik göstermediği ortaya konmuştur. Özellikle, düşük sitotoksisiteye sahip olduğu ispatlanan CuCM probu ile HeLa hücrelerinde başarılı bir görüntüleme elde edilmiştir (Li, 2016).

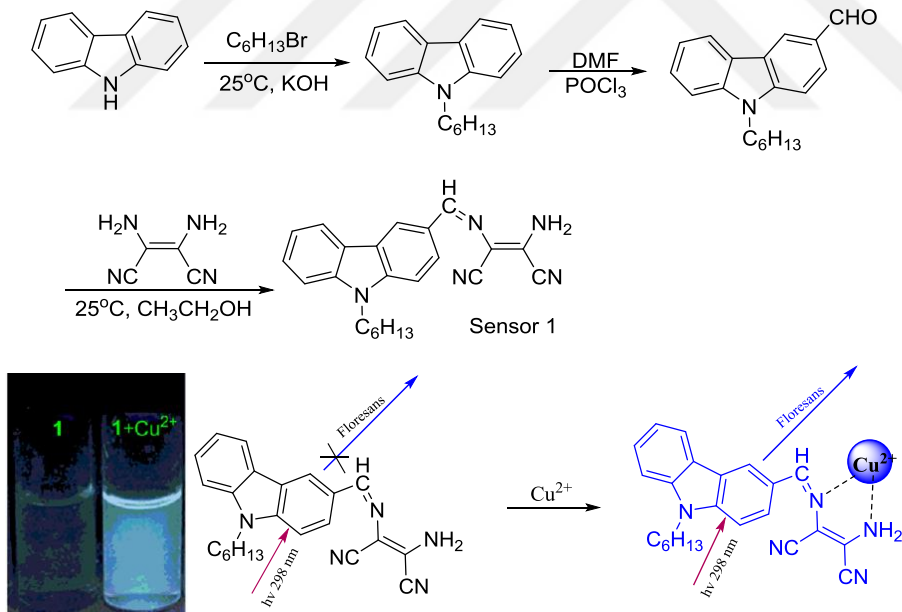


Mahapatra ve araştırma grubu tarafından 1:1 kompleks oluşturarak Hg^{2+} 'ya karşı yüksek seçicilik sergileyen karbazol-feniltiyosemi-karbazon bazlı bir açık kemosensör tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Sensör, sulu çözelti içindeki Hg^{2+} tespiti için oldukça hassas ve seçici bir sensör olarak rapor edilmiştir. Cys'in (Sistein) %99 sulu karbazol-feniltiyosemikarbazon- Hg^{2+} sistemine eklenmesi, hızlı ve etkin bir "turn-on" floresan (436 nm'de emisyon) artışı ile sonuçlanmıştır (Mahapatra vd., 2013).





Cu^{2+} için yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip Schiff bazlı yeni bir kemosensör tasarlanmış ve sentezlenmiştir. CH_3CN çözeltisindeki kemosensörün floresans şiddeti, 10 ekvivalent Cu^{2+} iyonu eklendikten sonra 160 kat artırılmıştır. Cu^{2+} iyonu, diğer metal iyonları ile kıyaslandığında, CH_3CN çözücüsü içerisinde daha kolay tespit edilebilmiştir. Hazırlanan kemosensörün, Cu^{2+} iyonlarına karşı düşük tespit limitine ve hızlı yanıt süresine sahip olduğu ifade edilmiştir (Yin vd., 2018).



3. MATERYAL VE METOT

3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Analiz Sistemleri

Analizlerinde kullanılan kimyasal maddeler, standart çözeltiler ve çözücüler analitik saflıkta olup, Sigma–Aldrich (St. Louis, Missouri, ABD) ve Honeywell (Charlotte, North Carolina, ABD) firmalarından temin edilmiştir. Kimyasalların tamamı başka bir saflaştırma işlemine gerek duyulmadan direk kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarda kullanılan saf su ise Milli–Q®7003/05/10/15 ultra saf su sisteminden (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. İnce tabaka kromatografi (İTK) analizleri silika jel tabakasıyla (SiO₂, Merck–60 F₂₅₄) kaplanmış alüminyum plakalar kullanarak gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan analiz sistemleri ve modellerine dair bilgiler **Çizelge 3.1**'de detaylı olarak yer almaktadır.

Çizelge 3. 1: Kullanılan analiz sistemleri ve modelleri.

Analiz sistemi	Marka/ model
▪ UV–Vis spektroskopi	<i>Agilent Carry 60 UV–Vis spektroskopi</i>
▪ Floresans spektroskopi	<i>Agilent Carry Eclipse floresans spektroskopi</i>
▪ ATR–FTIR spektroskopi	<i>Perkin Elmer Spectrum–100 ATR mod spektroskopi</i>
▪ MALDI–TOF MS spektroskopi	<i>Bruker Microflex™ LT MALDI–TOF MS spektroskopi</i>
▪ 400 MHz NMR spektroskopi	<i>Bruker–DPX 400–MHz ¹³C–APT– ve ¹H–NMR spektroskopi</i>
▪ 60 MHz NMR spektroskopi	<i>Magritek Spinsolve Masaüstü 60 MHz ¹H–NMR spektroskopi</i>
▪ Masaüstü pH metre	<i>Mettler Toledo SevenCompact™ pH Meter S210</i>
▪ Ultra saf su cihazı	<i>Merck Milli–Q®7003/05/10/15 ultra saf su sistemi</i>

Sunulan tez çalışmasında; metal iyonlarına duyarlı, yüksek analitik performansa sahip, farklı dalga boylarında ışığa yapabilecek özgün kimyasal yapılara sahip karbazol esaslı optik sensör sisteminin hazırlanarak, uygulanabilirlik testlerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda; karbazol esaslı sensör (CTH) molekülü [(E)–N'–((9–pentil–9H–karbazol–3–il)metilen)tiyofen–2–karbohidrazit] uygun reaktifler kullanılarak sentezlenmiş ve yapıları spektroskopik teknikler ile karakterize edildikten sonra metal iyonlarına karşı optik özellikleri

araştırılmıştır. **CTH** molekülünün, detaylı spektroskopik çalışmalar neticesinde Fe^{3+} metal iyonuna karşı absorpsiyon (kolorimetrik) sensör özelliği gösterdiği, Hg^{2+} metal iyonuna karşı ise C=N grup hidroliz reaksiyon mekanizması üzerinden yüksek oranda seçicilik gösterdiği kanıtlanmıştır. Tez kapsamında sentezlenen **CTH**'in Fe^{3+} ve Hg^{2+} metal iyonları için pratik uygulamalarda kullanılabilirliği ise doğal kaynak su numuneleri, test kitleri ve akıllı telefon uygulaması (Smartphone Free App., Colorimeter) i başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalar 2 temel aşamada yürütülmüştür;

I. aşama: Karbazol türevi **CTH**'in sentez ve karakterizasyon çalışmaları

II. aşama: Analitik sensör çalışmaları şeklindedir.

3.2 Karbazol Türevi Sensörün (CTH) Sentez ve Karakterizasyon Çalışmaları

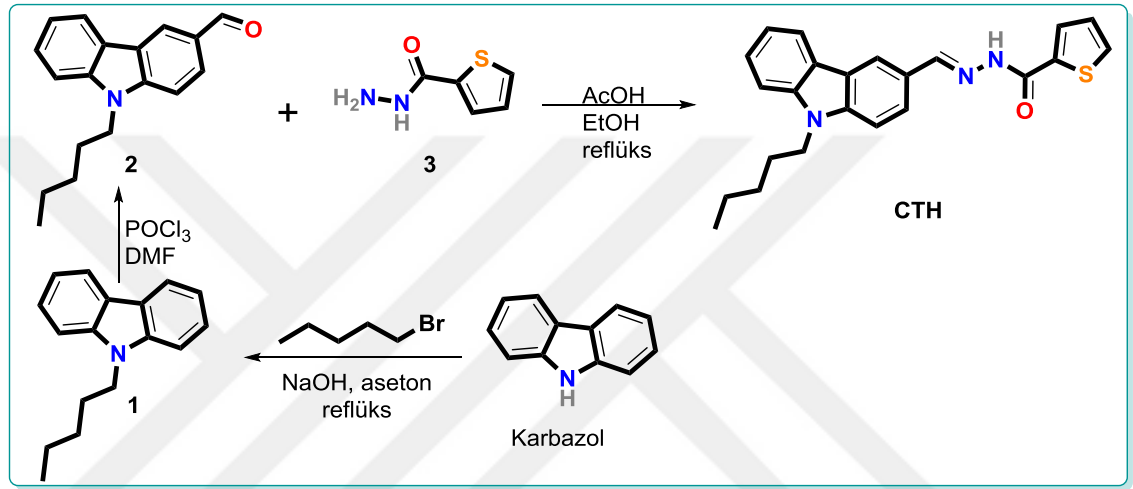
Tez çalışması kapsamında sentezlenen moleküllerin ve sensör **CTH** molekülünün yapıları **Şekil 3.1**'de yer almaktadır. **Şekilde** görüldüğü gibi; (2) nolu molekül, literatürde yer alan metoda göre karbazolden alkilasyon ve formilasyon reaksiyonuyla elde edildi (Savran ve ark., 2022). **CTH** sentezi için, EtOH (10 mL) içinde çözülmüş tiyofen-2-karbohidrazid, [molekül (3)] (89.08 mg, 0.63 mmol) çözeltisi, EtOH (10 mL) içindeki 9-pentil-9H-karbazol-3-karbaldehite [molekül (2)] (163 mg, 0.61 mmol) eklendi. Daha sonra, bu karışıma katalitik miktarda AcOH (üç damla) ilave edilmiştir. Karışım yaklaşık 3 saat reflüks edildi. Reaksiyon oda sıcaklığına getirildikten sonra oluşan beyaz çökelek süzüldü ve birkaç kez soğuk EtOH ile yıkandı. Elde edilen beyaz katı ürün, sensör **CTH**'yi (((E)-N¹-(9-pentil-9H-karbazol-3-il)metilen)tiyofen-2-karbohidrazid)) vermek üzere vakum altında kurutuldu. Reaksiyon verimi %71.

¹H-NMR spektrumu (400 MHz, DMSO-*d*₆); δ (ppm): 11.80 (d, $J = 10.8$ Hz, -NH), 8.48 (s, 1H, -N = CH), 8.31 (s, 1H, ArH), 8.25 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, ArH), 8.12 (s, 1H, ArH), 8.08-7.83 (m, 2H, ArH), 7.75-7.67 (m, 1H, ArH), 7.64 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, ArH), 7.50 (td, $J = 7.8, 2.6$ Hz, 1H, ArH), 7.26 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, ArH), 4.42 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 1.79 (tt, $J = 8.5, 4.2$ Hz, 2H), 1.29 (p, $J = 3.6$ Hz, 4H), 0.82 (t, $J = 3.4$ Hz, 2H).

¹³C APT-NMR spektrumu (150 MHz, DMSO-*d*₆); δ (ppm): 161.57, 149.35, 145.74, 141.45, 140.95, 139.12, 135.06, 126.70, 125.61, 125.12, 124.55, 122.71, 122.47, 121.08, 120.58, 119.83, 110.55, 110.15, 42.87, 29.10, 28.73, 22.38, 14.34.

FT-IR spektrumu (ATR-FTIR) (cm⁻¹): 3159, 3043, 2946, 2925, 2861, 1648, 1597, 1516, 1494, 1474, 1421, 1393, 1244, 1152, 942, 814, 792.

Kütle spektrumu (MALDI-TOF MS); C₂₃H₂₃N₃OS m/z Hesaplanan: 389.510
Deneysel: 389.726



Şekil 3. 1 : Sensör CTH molekülünün sentez şeması.

3.3 Analitik Sensör Çalışmaları

3.3.1 Standart metal çözeltileri ve CTH'ın stok çözeltisinin hazırlanması

Spektroskopi çalışmaları için metal iyonlarının ($M=Hg^{2+}$, Fe^{3+} , Ca^{2+} , K^+ , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} ve Co^{2+}) perklorat tuzlarının $[M(ClO_4)_x]$ çözeltileri, ultra saf su içerisinde 1×10^{-2} M konsantrasyonda hazırlanmıştır.

Çalışma kapsamında sentezlenen CTH sensörünün stok çözeltisi 1×10^{-2} M konsantrasyonda DMSO içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti uygun oranlarda su ile karışabilen organik çözücü ortamında [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton-Robinson tamponu, pH=7] 1×10^{-6} M konsantrasyona seyreltilmiş, daha sonraki aşamada ise metal iyonlarına karşı optik özellikleri incelenmiştir.

3.3.2 CTH'nin metal iyonlarına karşı spektroskopik özelliklerinin incelenmesi

CTH'nin metal iyonlarına karşı optik özellikleri UV-Vis ve floresans spektrometreleri ile incelenmiştir. Hazırlanan CTH'nin metal iyonlarına karşı cevapları her iki spektroskopik yöntemle de incelenerek;

- ✓ çözücü etkisi,
- ✓ metal iyonlarına karşı duyarlılık,
- ✓ metal iyonlarına karşı seçicilik,
- ✓ metal iyonlarına karşı cevap süresi,
- ✓ metal iyonları ile titrasyon,
- ✓ metal iyonuna karşı bağlanma sabiti ve algılama limiti değerlerinin tespiti,
- ✓ pH'nin etkisi,
- ✓ kompleks sitokiyometrisinin belirlenmesi,
- ✓ gerçek numunelerde uygulanabilirliğe dair çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

UV-Vis ve floresans spektroskopi deneyleri, 3000 µL hacimli quartz küvetler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. CTH'nin stok çözeltisi, uygun oranlarda su ile karışabilen organik çözücü ortamında [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton-Robinson tamponu, pH=7] tespit edilen uygun konsantrasyona (1×10^{-6} M) seyreltilmiştir. UV-Vis ve floresans spektroskopisinde ön tarama (pre-scan) modülü ile uyarılma dalga boyu CTH için öncelikle belirlenmiş ve CTH çözeltileri üzerine belirli oranlarda metal iyonlarının ilave edilmesiyle UV-Vis ve floresan titrasyon deneyleri ve seçicilik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Titrasyon deneylerinden elde edilen veriler kullanılarak, CTH'nin metal iyonları için tayin limiti ilgili eşitlikler kullanılarak belirlenmiştir. CTH'nin optimum çalışma koşullarının tespiti için cevap süresi ve pH ile ilgili çalışmalar detaylı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.3 CTH'nin gerçek numunelerde uygulanabilirliğinin incelenmesi

Fe³⁺ metal iyonunun pratik/yerinde ve düşük maliyetli tespiti için analitik bir araç olarak Apple iPhone7 cihazı kullanılarak "akıllı telefon uygulaması" üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu platform, CTH'nin RGB (kırmızı, yeşil, mavi) değerlerinde [Fe³⁺] konsantrasyonuna karşı değişiklikleri hesaplayabilen ücretsiz

"Colorimeter" mobil uygulamasını kullanarak gerçek örneklerde Fe^{3+} metal iyonu tespiti için kullanılmıştır.

Akıllı telefon uygulaması yanında, doğal kaynak sularında Hg^{2+} ve Fe^{3+} metal iyonlarını tespiti için **CTH**'in pratik numunelerdeki uygulanabilirliği araştırılmıştır. Numuneler 5000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş, daha sonra 0.45 µm'lik bir membran filtreden süzölmüş, son olarak önerilen spektroskopi prosedürleriyle analiz edilmiştir. **CTH**'in su numunelerinde Hg^{2+} ve Fe^{3+} metal iyonlarını tespitlerine karşı duyarlılığı, standart ekleme/spiking yöntemi [0.1 µM ve 0.2 µM Hg^{2+} ilavesi; 2.0 µM ve 4.0 µM Fe^{3+} ilavesi] kullanılarak değerlendirilmiştir. **CTH**'nin performansı, floresan yöntemimizin güvenilirliğini göstermek için Fe^{3+} tayini için standart AAS yöntemiyle de doğrulanmıştır.

Son olarak, **CTH**'in test kâğıdı uygulanabilirliği için "daldırma-kaplama" yöntemi kullanılarak deneysel uygulama gerçekleştirilmiştir. Silika kaplı ince tabaka kromatografisi (İTK) levhası kullanılarak, Hg^{2+} metal iyonu tespiti için test kâğıdı uygulanmıştır. İTK plakası, **CTH** çözeltisine daldırılmış, daha sonra havada kurutulmuş, bu prosedürü takiben " Hg^{2+} duyarlı test kâğıdı" performansı, floresan ışığı altında değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

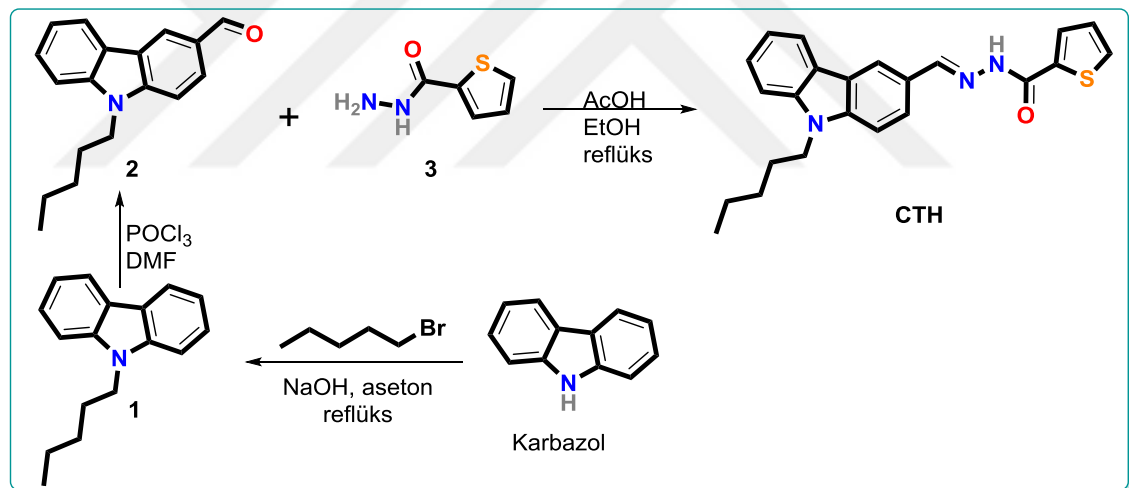
Sunulan tez çalışmasında elde edilen deneysel bulgular 2 ana alt başlık altında sunulmuş ve sonuçlar detaylı olarak değerlendirilmiştir.

(i) **CTH**'in sentez ve karakterizasyonuna dair elde edilen sonuçlar

(ii) **CTH**'in analitik sensör performansına dair elde edilen sonuçlar

4.1 CTH'in Sentez ve Karakterizasyonu

Sentezlenen **CTH**'in yapısı (Şekil 4.1) $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C APT-NMR}$, FT-IR ve MALDI TOF-MS spektroskopi yöntemleri kullanılarak başarılı bir şekilde karakterize edilmiştir (Şekil 4.2–4.5).



Şekil 4. 1: CTH molekülünün sentez şeması.

CTH'in karakterizasyonu için elde edilen $^1\text{H-NMR}$ verisi incelendiğinde, yapıdaki karbazolün N atomuna bağlı $-\text{CH}_2$ protonları 4.42 ppm'de triplet olarak gözlenmiştir. Ayrıca pentil grubuna ait diğer protonların sinyalleri 0.8–1.8 ppm'de multipler olarak gözlenmiştir. Karbazol ve tiyofen halkarındaki aromatik proton tepe noktaları 7.2–8.5 ppm'de rezonans olmuştur. **CTH**'in ikili sinyal olarak $-\text{NH}$ ve karakteristik imin bandı ($\text{CH}=\text{N}$) sinyalleri $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında sırasıyla 11.80 ve 8.48 ppm'de gözlenmiştir. İmin karbonu ($\text{CH}=\text{N}$), $^{13}\text{C APT-NMR}$ spektrumlarında 149.35 ppm'de

ve FT-IR spektrumlarında 1597 cm^{-1} 'de tespit edilmiştir. Ayrıca, CTH'n yapısındaki tiyofen hirazit parçasının -C=O germe titreşimleri 1648 cm^{-1} 'de gözlenmiştir.

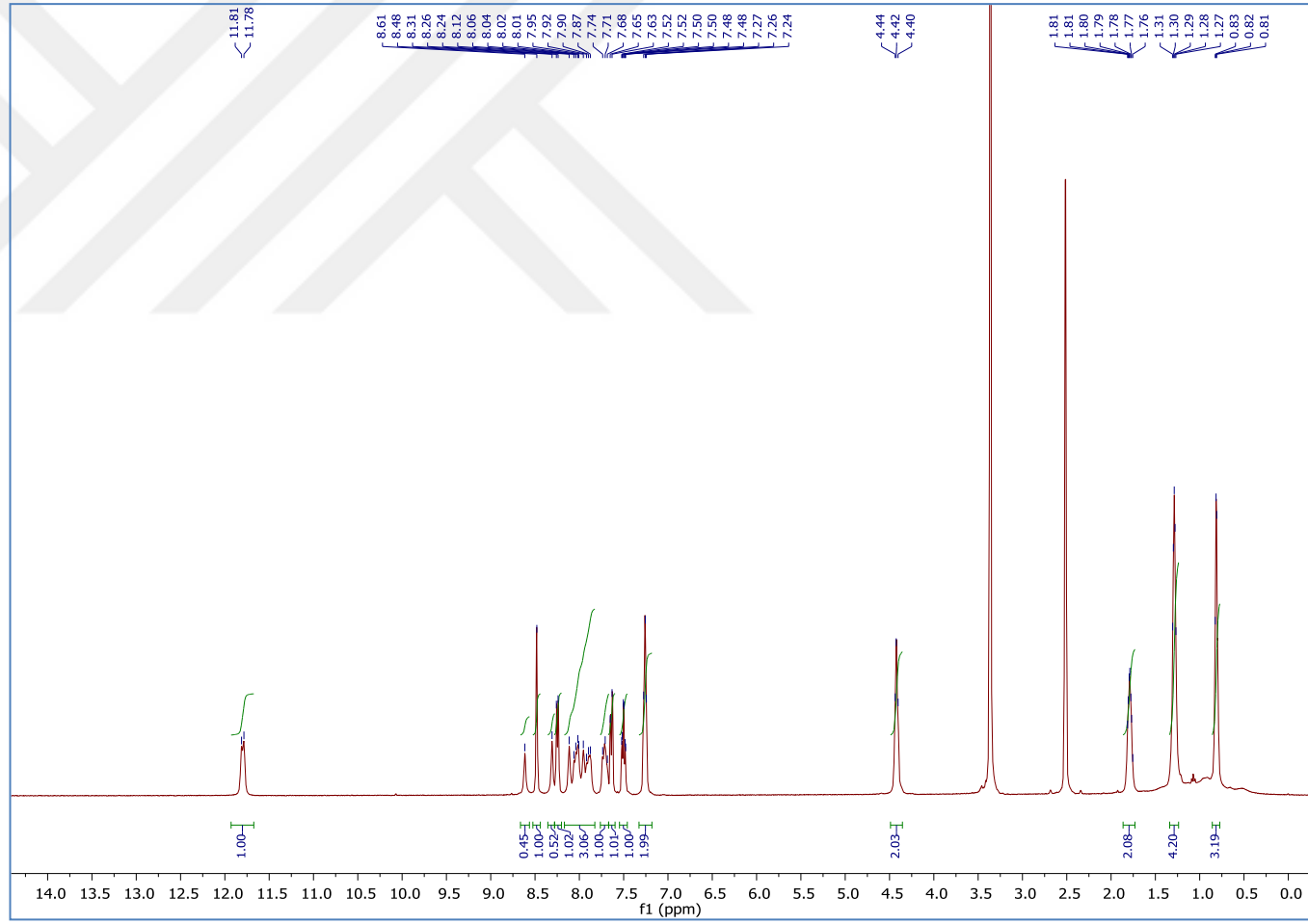
Sonuç olarak elde edilen $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C APT-NMR}$, FT-IR ve MALDI TOF-MS verileri, CTH bileşiğinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini kanıtlamaktadır.

$^1\text{H-NMR}$ spektrumu (400 MHz, DMSO- d_6); δ (ppm) 11.80 (d, $J = 10.8\text{ Hz}$, -NH), 8.48 (s, 1H, -N = CH), 8.31 (s, 1H, ArH), 8.25 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H, ArH), 8.12 (s, 1H, ArH), 8.08 – 7.83 (m, 2H, ArH), 7.75–7.67 (m, 1H, ArH), 7.64 (d, $J = 8.3\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.50 (td, $J = 7.8, 2.6\text{ Hz}$, 1H, ArH), 7.26 (t, $J = 6.0\text{ Hz}$, 2H, ArH), 4.42 (t, $J = 6.5\text{ Hz}$, 1H), 1.79 (tt, $J = 8.5, 4.2\text{ Hz}$, 2H), 1.29 (p, $J = 3.6\text{ Hz}$, 4H), 0.82 (t, $J = 3.4\text{ Hz}$, 2H).

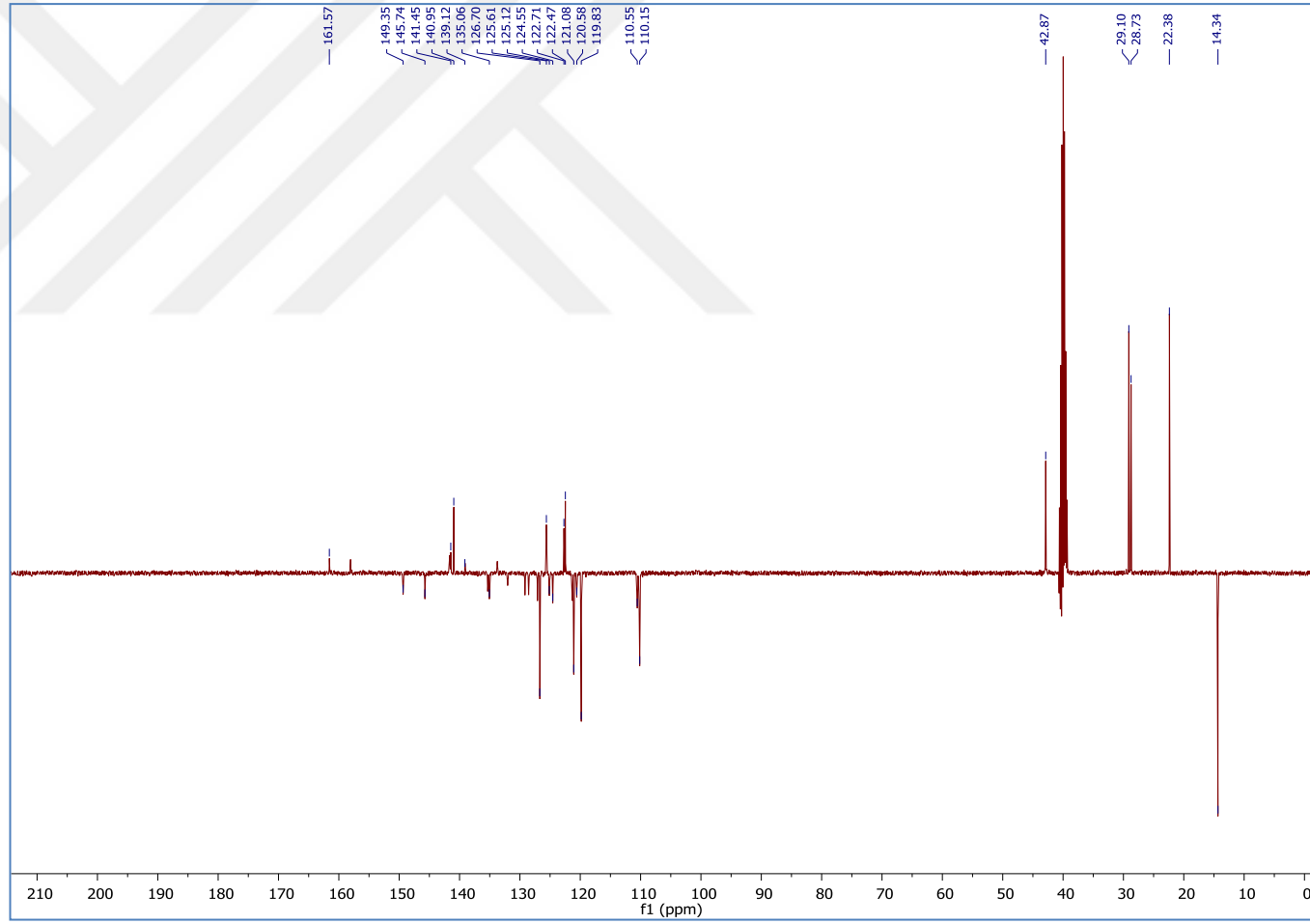
$^{13}\text{C APT-NMR}$ spektrumu (150 MHz, DMSO- d_6); δ (ppm) 161.57, 149.35, 145.74, 141.45, 140.95, 139.12, 135.06, 126.70, 125.61, 125.12, 124.55, 122.71, 122.47, 121.08, 120.58, 119.83, 110.55, 110.15, 42.87, 29.10, 28.73, 22.38, 14.34.

FT-IR spektrumu (ATR-FTIR) (cm^{-1}) 3159, 3043, 2946, 2925, 2861, 1648, 1597, 1516, 1494, 1474, 1421, 1393, 1244, 1152, 942, 814, 792.

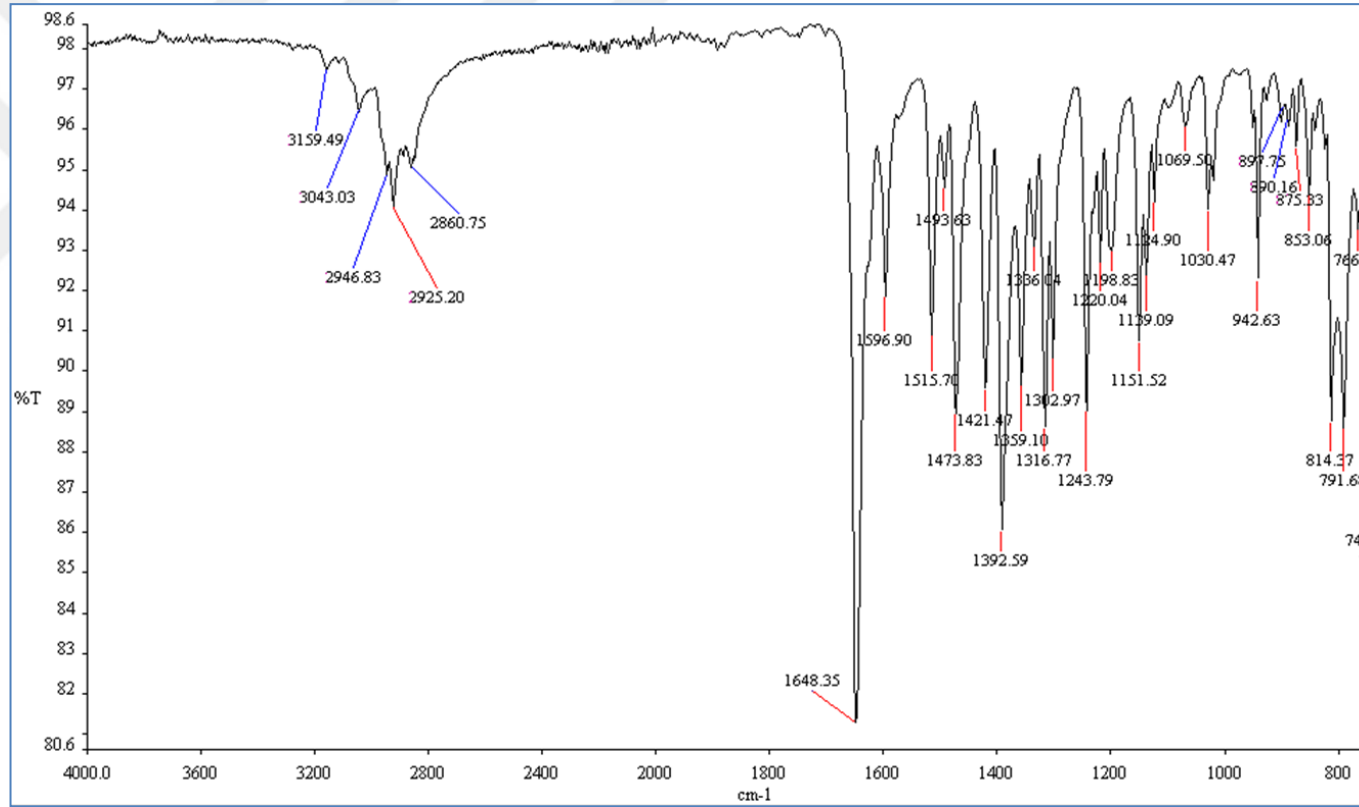
Kütle spektrumu (MALDI-TOF MS); Hesaplanan: $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{OS}$ m/z: 389.520.
Deneyisel: 389.726



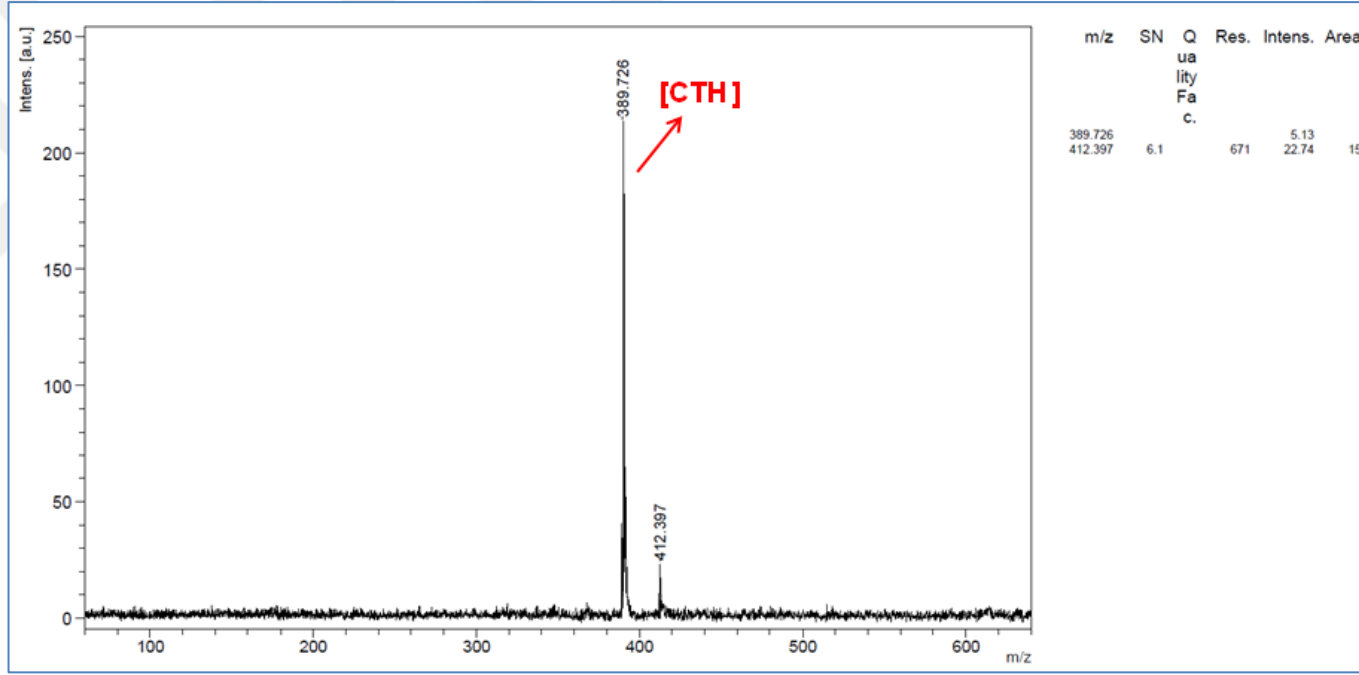
Şekil 4. 2: CTH'a ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu ($\text{DMSO-}d_6$).



Şekil 4. 3: CTH'a ait ^{13}C -APT NMR spektrumu ($\text{DMSO-}d_6$).



Şekil 4. 4: CTH'a ait ATR-FTIR spektrumu.

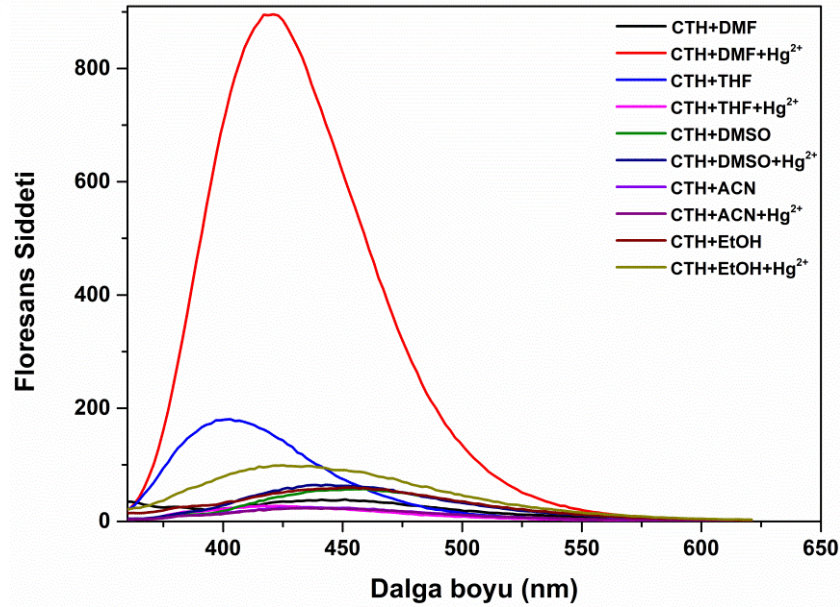


Şekil 4. 5: CTH'a ait MALDI TOF-MS spektrumu.

4.2 CTH'ın Analitik Sensör Performans Sonuçları

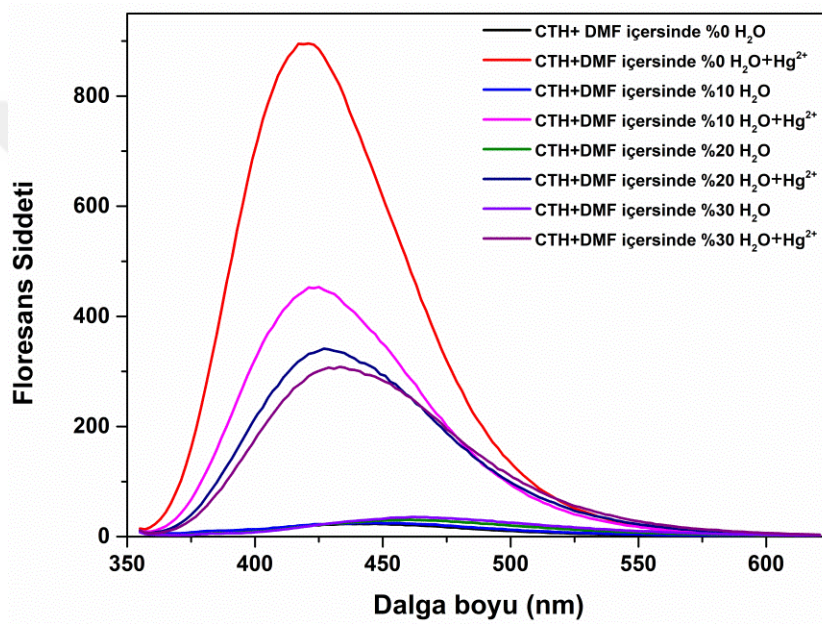
4.2.1 CTH'ın metal iyonlarına karşı sensör özelliklerine dair sonuçlar

Sentezlenen **CTH**'ın sensör özelliklerinin belirlenmesi amacıyla ilk olarak; en uygun çözücü türünün tespitine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda dimetilformamit (DMF), tetrahidrofuran (THF), dimetil sulfoksit (DMSO), asetonitril (ACN) ve etil alkol (EtOH) ile denemeler gerçekleştirilmiştir ve metal iyonu (Hg^{2+}) varlığında emisyon spektrumlarından en uygun çözücü türünün tespiti sağlanmıştır (**Şekil 4.6**). Elde edilen verilere göre; genel olarak metal iyonları varlığında **CTH** molekülünün floresans şiddetinin çok düşük olduğu ($\lambda_{emmaks} \sim 450$ nm) gözlenmiştir. Hg^{2+} iyonunun Sisteme Hg^{2+} metal iyonunun (*ön denemeler neticesinde karar verilen Hg^{2+} metal iyonu varlığında*) **CTH** molekülüne eklenmesi ile birlikte $\lambda_{em} = 429$ nm de floresans artışının (*turn-on*) DMF çözücüsü ile meydana geldiği görülmüştür. Sonuç olarak, Hg^{2+} metal iyonu ilavesi ile en fazla floresans şiddeti değişiminin tespit edildiği DMF çözücüsü temelinde spektroskopik çalışmalara devam edilmesinin uygun olacağına karar verilmiştir.



Şekil 4. 6 : CTH çözücü çalışması sonucu elde edilen emisyon şiddetleri.

Uygun çözücü ortamını tespit etmek amacıyla, DMF içerisinde kullanılabilir H_2O miktarına (Britton–Robinson tamponu, pH=7) yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.7). Elde edilen sonuçlara göre; kullanılan çözücü sisteminde H_2O/DMF oranı 1/10 olduğunda Hg^{2+} metal iyonu ilavesi ile floresans şiddeti değişiminin artış gösterdiği, su oranı %10 değerinin üzerine çıktığında ise floresans şiddetinde azalma tespit edilmiştir. Sonuç olarak; bu çalışma için en uygun çözücü sisteminin DMF/ H_2O : 9/1 şeklinde olduğuna karar verilmiştir (Britton–Robinson tamponu, pH=7) ve tüm UV–Vis ve floresans spektroskopi çalışmalarında bu çözücü sistemi ile çalışılmıştır.

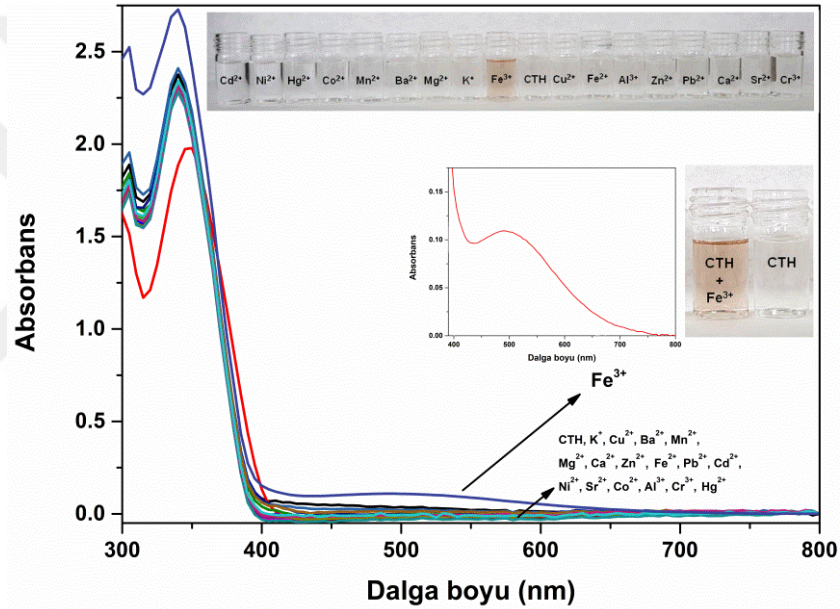


Şekil 4. 7 : CTH- Hg^{2+} kompleks sisteminde artan su oranına göre floresans şiddetleri.

4.2.2 CTH'nin Fe^{3+} metal iyonuna karşı kolorimetrik sensör çalışma sonuçları

4.2.2.1 CTH'nin Fe^{3+} ve diğer metal iyonlarına karşı duyarlılık çalışma sonuçları

CTH'nin metal iyonlarına ($M=Hg^{2+}$, Fe^{3+} , Ca^{2+} , K^+ , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} ve Co^{2+}) olan kolorimetrik duyarlılığı (cevap değeri), DMF/H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) çözücü karışımında araştırılmıştır. CTH için 200–800 nm dalga boyu aralığında elde edilen UV–Vis spektrumunda ~350 nm dalga boyunda, bir absorpsiyon bandı elde edilmiştir. Şekil 4.8'den görüldüğü gibi, CTH çözeltisine her bir metal çözeltisi ayrı ayrı eklenerek duyarlılık çalışması gerçekleştirilmiştir.



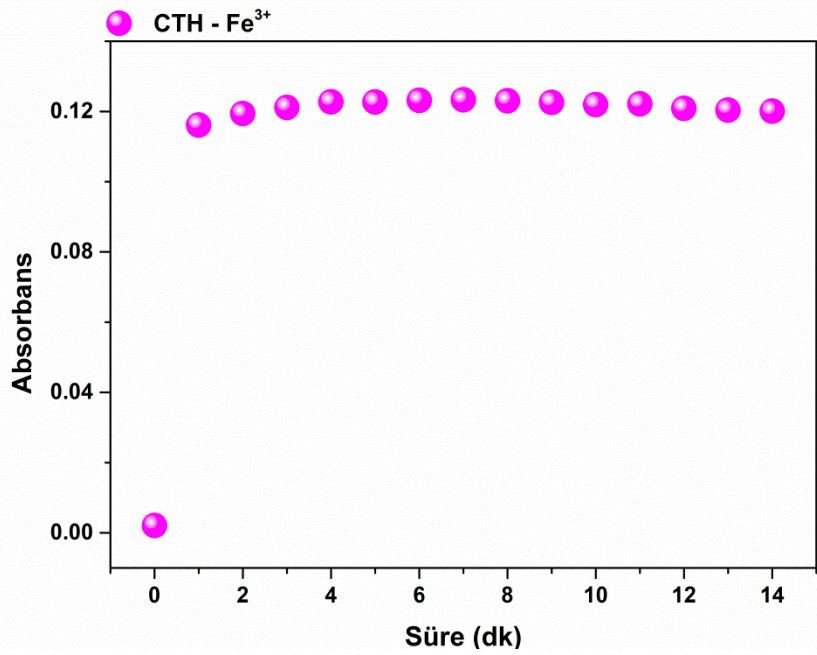
Şekil 4. 8: CTH (5 µM) metal iyon duyarlılık çalışması sonucu elde edilen absorpsiyon spektrumları [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

CTH içeren çözeltiye metal iyon çözeltileri eklendikten sonra, sadece Fe^{3+} varlığında ~400 ila 500 nm arasında yeni ortaya çıkan geniş bir absorpsiyon bandı elde edilmiştir. Sensörün absorpsiyon şiddetinde en fazla artış Fe^{3+} metal çözeltisi varlığında 505 nm dalga boyunda gözlenirken, diğer metal çözeltilerinin varlığında sensörün cevabının değişmediği tespit edilmiştir. Buna karşılık, diğer metal iyonları, CTH'nin absorpsiyon spektrumunda önemli bir değişime sebep olmamıştır. Ayrıca, CTH– Fe^{3+} kompleks sisteminin renk değiştirme davranışı, Fe^{3+} tanıma için çıplak göz sensörünün geliştirilmesi fikrini desteklemiştir. CTH çözeltisine Fe^{3+} eklendiğinde, çözeltilerin rengi, Şekil 4.8'de gösterildiği gibi pembe bir renge

dönüşmüştür. Dolayısıyla elde edilen sonuçlar, **CTH**'in analiz edilen diğer metal iyonlarına kıyasla Fe^{3+} metal iyonuna karşı iyi bir kolorimetrik duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir.

4.2.2.2 CTH'in Fe^{3+} metal iyonuna cevap süresinin tespitine dair çalışma sonuçları

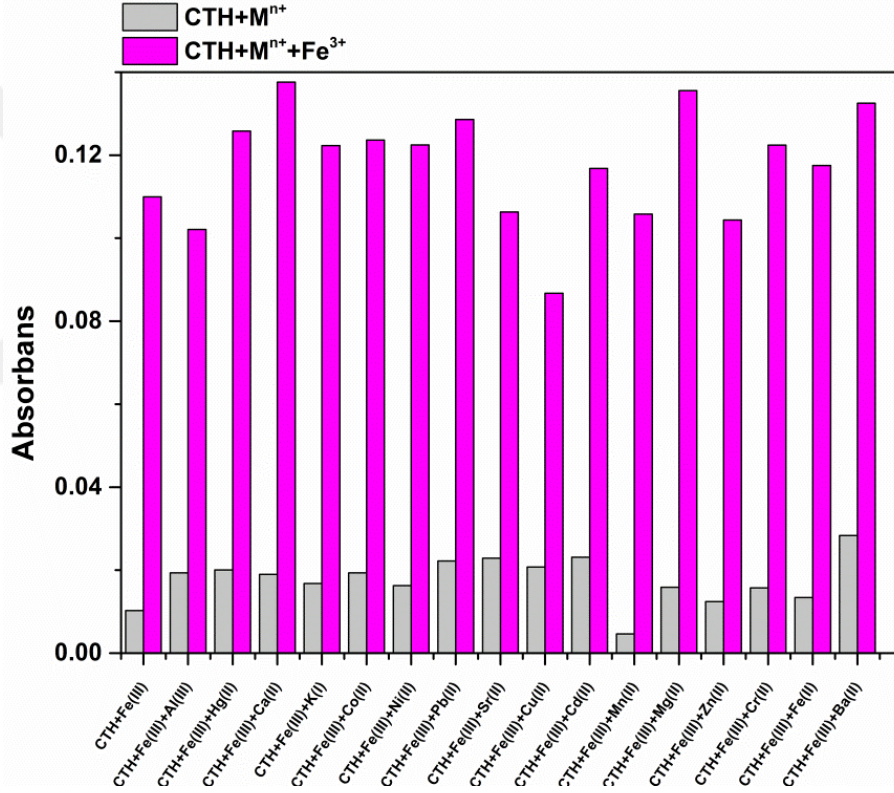
CTH'in DMF/ H_2O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında optimum cevap değerini belirlemek için, sensör çözeltisine (5×10^{-6} M) 1 equivalent miktarda Fe^{3+} eklenerek farklı süre değerlerinde 505 nm dalga boyunda absorpsiyon spektrumları elde edilmiştir. En uygun cevap süresinin, Fe^{3+} çözeltisinin eklenmesinin ardından maksimum absorbans artışının elde edildiği yaklaşık süre değeri yani 1 dk olduğu tespit edilmiştir (**Şekil 4.9**) ve devam eden spektroskopik çalışmalarda oda sıcaklığı ve 1 dk deney süresi uygulanmıştır.



Şekil 4. 9: CTH'in Fe^{3+} iyonuna kolorimetrik cevap süresinin tespiti [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

4.2.2.3 CTH'nin Fe^{3+} yanında diğer metal iyonlarına karşı seçicilik çalışma sonuçları

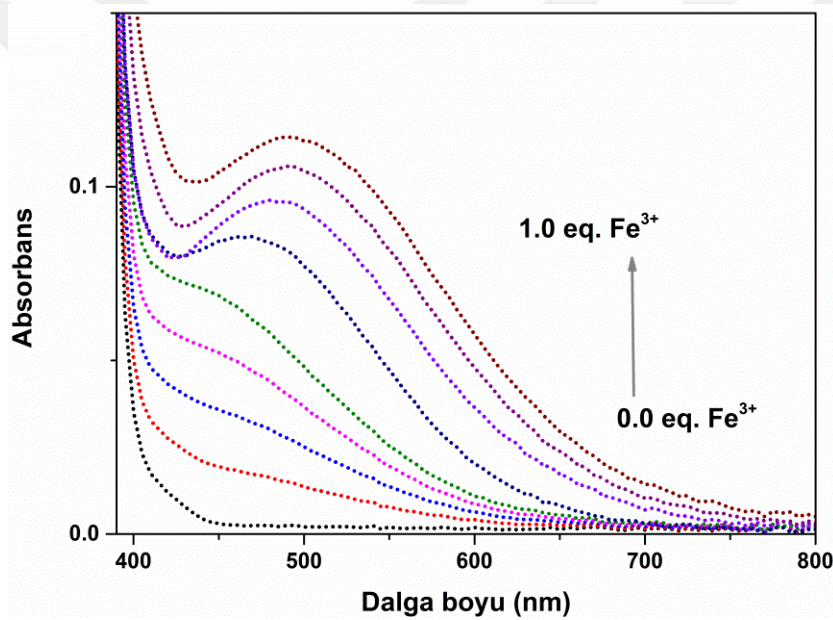
CTH'nin DMF/ H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında metal iyonlarına olan seçiciliğinin tespit çalışmasında; Fe^{3+} varlığında, farklı metal iyonlarına ($M=Hg^{2+}, Fe^{3+}, Ca^{2+}, K^+, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}, Ba^{2+}, Al^{3+}, Cr^{3+}, Sr^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Ni^{2+}$ ve Co^{2+}) olan cevap değerleri incelenmiştir. Fe^{3+} iyonu varlığında, CTH'a diğer metal iyonlarının ayrı ayrı eklenmesiyle absorbans şiddetinde artış göstermiş, dolayısıyla Fe^{3+} metal iyonuna karşı geliştirilen sensörün oldukça seçici olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4. 10: CTH'in (5 μ M) farklı metal iyonları varlığında Fe^{3+} metal iyonuna karşı seçicilik çalışması sonucu elde edilen absorbans maksimumları [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

4.2.2.4 CTH'nin Fe^{3+} metal iyonu ile titrasyon çalışma sonuçları

CTH çözeltisine farklı derişimlerde Fe^{3+} metal iyonu içeren çözeltiler (0–1 equivalent) sırayla eklenerek, sensörün DMF/ H_2O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında Fe^{3+} metal iyonu derişimine karşı duyarlılığı incelenmiştir. 5×10^{-6} M konsantrasyondaki sensör CTH çözeltisine, ardışık olarak Fe^{3+} (0.0–1.0 ekivalent) eklenmesi, 505 nm'deki absorbans bandının düzenli olarak artışına ve bir platoya ulaşmasına neden olmuştur. Sonuç olarak, sadece 1 ekivalent Fe^{3+} metal iyonu çözeltisi eklendiğinde 505 nm'deki absorbans şiddetinde maksimum artış tespit edilmiş ve doygunluk derecesine ulaşıldığı kanaatine varılmıştır (Şekil 4.11).

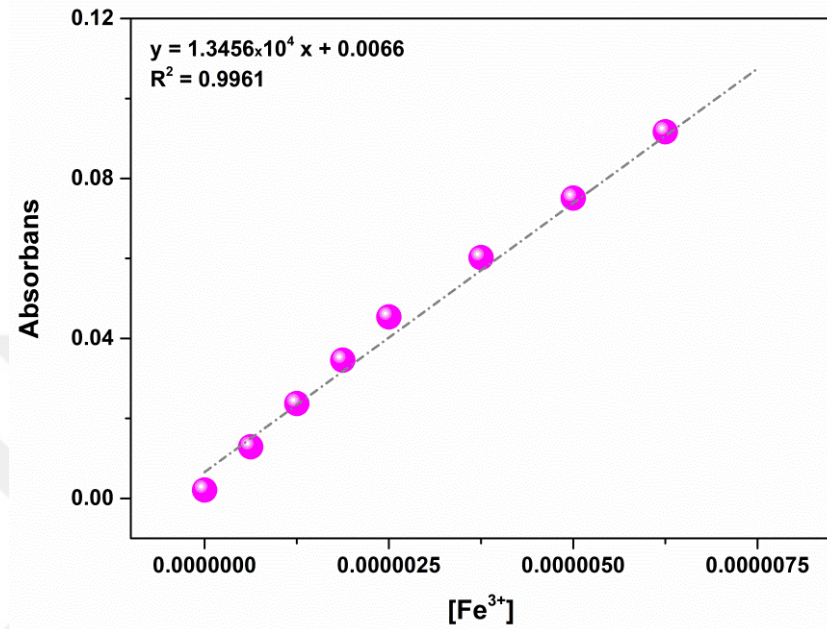


Şekil 4. 11: CTH'in ($5 \mu M$) Fe^{3+} metal iyonu ile (0–1.0 eq.) UV–Vis titrasyon çalışması sonucu elde edilen absorpsiyon spektrumları [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

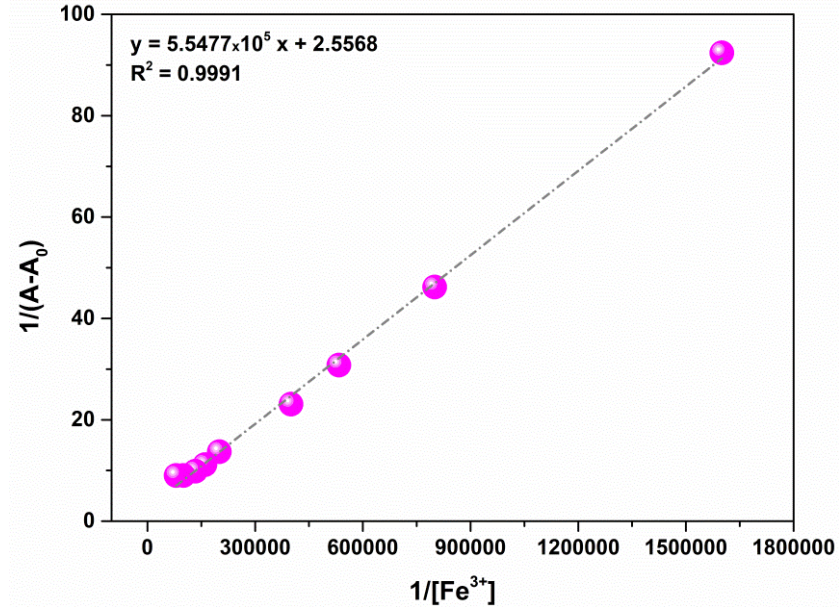
4.2.2.5 CTH'nin Fe^{3+} metal iyonuna karşı bağlanma sabiti ve algılama limiti değerleri tespit sonuçları

UV–Vis titrasyonundan elde edilen veriler kullanılarak, CTH'nin Fe^{3+} iyonu molar konsantrasyonuna $[Fe^{3+}]$ ve $1/[Fe^{3+}]$ 'e karşı kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir (Şekil 4.12 ve 4.13). Absorbans şiddetinde, artan derişimlerdeki Fe^{3+} metal iyonuna karşı doğrusal artış tespit edilmiştir. LOD değeri elde edilen grafikten hesaplanmıştır [$LOD=3 \times \sigma/K$]. LOD ile ifade edilen tayin limiti, σ kör sinyalin standart sapmasını

ve K ise kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir. Elde edilen veriler doğrultusunda LOD değeri 5.89 μM olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.12). Ayrıca CTH- Fe^{3+} kompleksinin bağlanma sabiti ($\log K_a$) değeri, Benesi-Hildebrand grafiğine bağlı olarak $4.59 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4. 12: CTH'in (5 μM) ile Fe^{3+} iyonunu algılama limiti çalışmasından elde edilen kalibrasyon grafiği [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton-Robinson tamponu, pH=7].

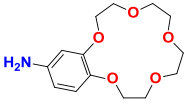
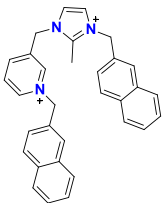
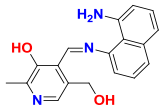
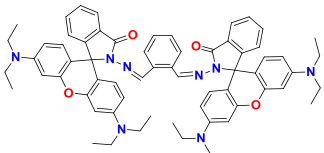
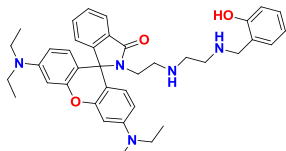
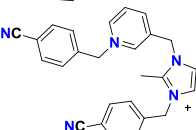
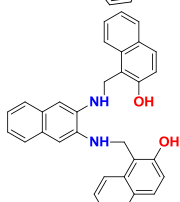
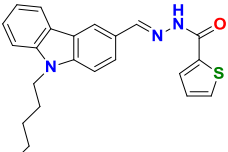


Şekil 4. 13: CTH'in (5 μM) ile Fe^{3+} iyonuna bağlanma sabitinin tespiti için elde edilen Benesi-Hildebrand kalibrasyon grafiği [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton-Robinson tamponu, pH=7].

CTH'in DMF/ H_2O (90/10, v/v, Britton-Robinson tamponu, pH=7) ortamında Fe^{3+} metal iyonuna olan kolorimetrik sensör performansı, literatüre sunulan/geliştirilen

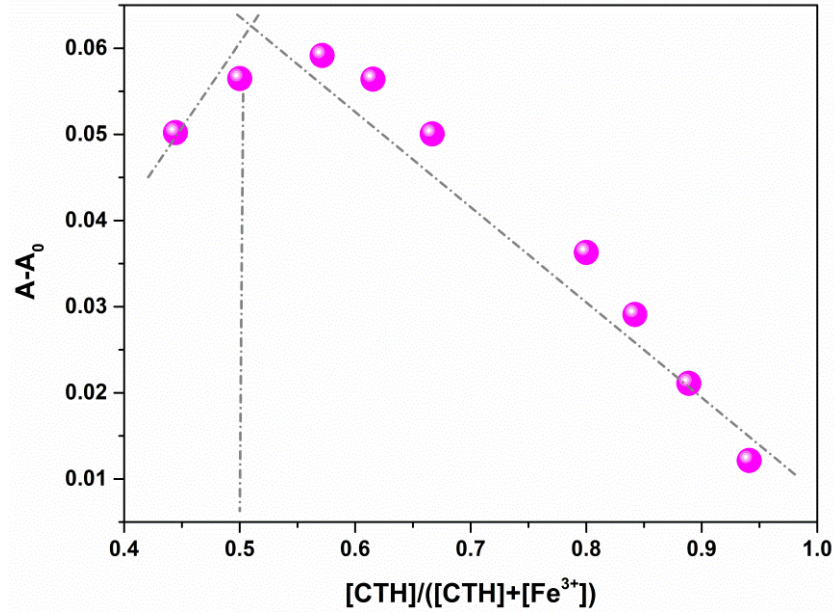
kolorimetrik ve floresans sensörler ile karşılaştırıldığında; çözücü ortamı, LOD değeri, bağlanma sabiti değeri ve uygulamaları bakımından önemli üstünlüklere sahip olduğu açıkça görülmektedir (**Çizelge 4.1**).

Çizelge 4. 1: Fe³⁺ iyonunu tespiti için geliştirilen kolorimetrik ve floresans sensörler ile CTH performansının karşılaştırılması.

Fe ³⁺ tayini için sensör	Sinyal prosesi	Çözücü ortamı	LOD (M)	Test kağıdı	Smart App	Ref
	FL "turn off" Kolorimetrik	H ₂ O	5.0 x 10 ⁻⁵	yok	yok	(Ly ve ark., 2017)
	FL "turn off"	H ₂ O	1.99 x 10 ⁻⁵	yok	yok	(Sui ve ark., 2014)
	FL "turn on"	DMSO : H ₂ O (1:1, v/v)	9.84 x 10 ⁻⁶	yok	yok	(Sahoo ve ark., 2016)
	FL "turn on" Kolorimetrik	CH ₃ CN : Tris-HCl (75:25, v/v)	1 x 10 ⁻⁴	yok	yok	(Weerasinghe ve ark., 2011)
	FL "turn on" Kolorimetrik	CH ₃ CN : H ₂ O (1:1, v/v)	2 x 10 ⁻⁵	yok	yok	(Chai ve ark., 2012)
	FL "turn off"	H ₂ O : CH ₃ CN (9:1, v/v)	2.70 x 10 ⁻⁵	yok	yok	(Chaudhary ve ark., 2018)
	FL "turn on"	THF : H ₂ O (1:99, v/v)	3.53 x 10 ⁻⁵	yok	yok	(Jung ve ark., 2010)
	Kolorimetrik	DMF:H ₂ O (90:10, v/v)	5.89 x 10 ⁻⁶	var	var	CTH

4.2.2.6 CTH ve Fe³⁺ etkileşiminin kompleks stokiyometrisinin tespitine dair sonuçlar

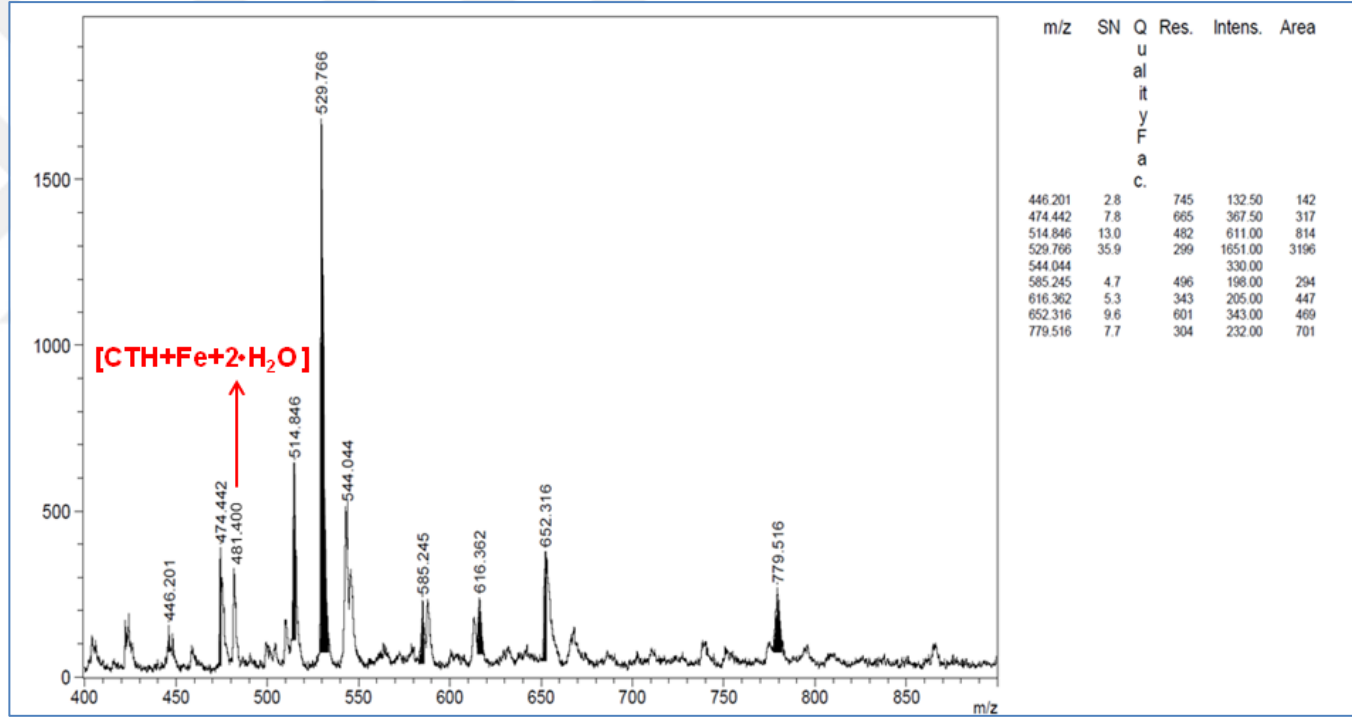
Fe³⁺ metal iyonuna seçimli olarak kolorimetrik sensör özelliği gösteren CTH'nin, Fe³⁺ metal iyonu ile nasıl bir etkileşime girdiği hakkında bilgi edinmek için Job's plot (mol oran), MALDI TOF-MS ve ATR-FTIR spektrumlarındaki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.14–4.18). Job's plot (mol oran) metoduna göre, ışığı absorplayan bir katyon kompleksindeki katyon/sensör oranı, yani kompleksin sitokiyometrisi, absorbladığı dalga boyunda absorbanans ölçümleri ile tespit edilebilmektedir. Katyon ile sensör arasında oluşan kompleksin stokiyometri oranının tespit edilmesi için, katyonun veya sensörün mol kesrine, X (veya katyonun hacim kesrine, VK/(VK + VR)), VK; katyon çözeltisinin hacmi, VR; sensör çözeltisinin hacmi) karşı grafiğe geçirilmektedir. Elde edilen iki lineer doğru kesiştirilmekte ve kesim noktasına karşılık gelen mol kesirlerinin oranı, X_K/X_R, kompleks yapısında bulunan katyonun/sensör oranını vermektedir. Hesaplanan oran 0.5 ise M1–R1, 0.33 ise M1–R2, 0.25 ise M1–R3, 0.20 ise M1–R4 kompleksi meydana gelmiştir. Şekil 4.14'den görüldüğü üzere, CTH'nin, Fe³⁺ metal iyonu ile hesaplanan mol oranı 0.5 bulunmuş yani, 1:1 sitokiyometri ile bağlanma gösterdiği tespit edilmiştir.



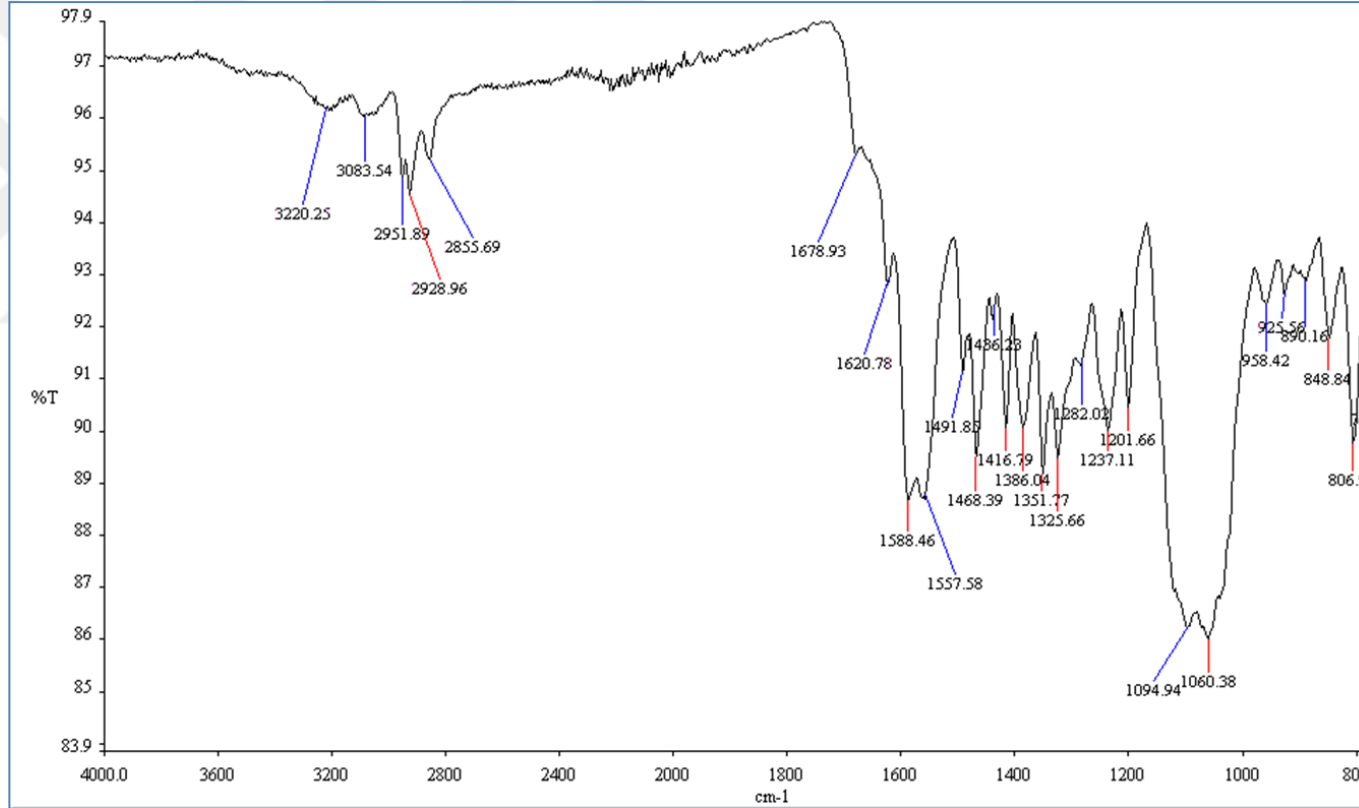
Şekil 4. 14: Job's metodu ile CTH'nin Fe³⁺ iyonu ile kompleks stokiyometrisinin tespiti [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

CTH'ın DMF/ H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) çözeltisi üzerine Fe³⁺ iyonu çözeltisi ilave edilerek karışımın MALDI TOF–MS sistemi ile kütle spektrumu alınmıştır (**Şekil 4.15**). **Şekil 4.15**'den anlaşıldığı gibi, **CTH-Fe³⁺** kompleksinde metal/ligand oranının 1:1 olduğu kütle spektroskopisinde yer alan m/z: 481.400 [**CTH+Fe+2•H₂O**] değerinden anlaşılmaktadır.

Elde edilen ATR–FTIR spektrumunda ise; **CTH**'ın 1648 cm⁻¹'deki hidrazit karbonil piki, Fe³⁺ metal iyonu ilavesiyle 1678 cm⁻¹'e kaymıştır. Ayrıca **CTH**'nin 1596 cm⁻¹'deki C=N tepe noktasının, **CTH-Fe³⁺** kompleksinin oluşumundan sonra 1620 cm⁻¹'e kaydığı görülmektedir (**Şekil 4.16**).



Şekil 4. 15: CTH-Fe³⁺ kompleksinin MALDI TOF-MS spektrumu.



Şekil 4. 16: CTH-Fe³⁺ kompleksinin ATR-FTIR spektrumu.



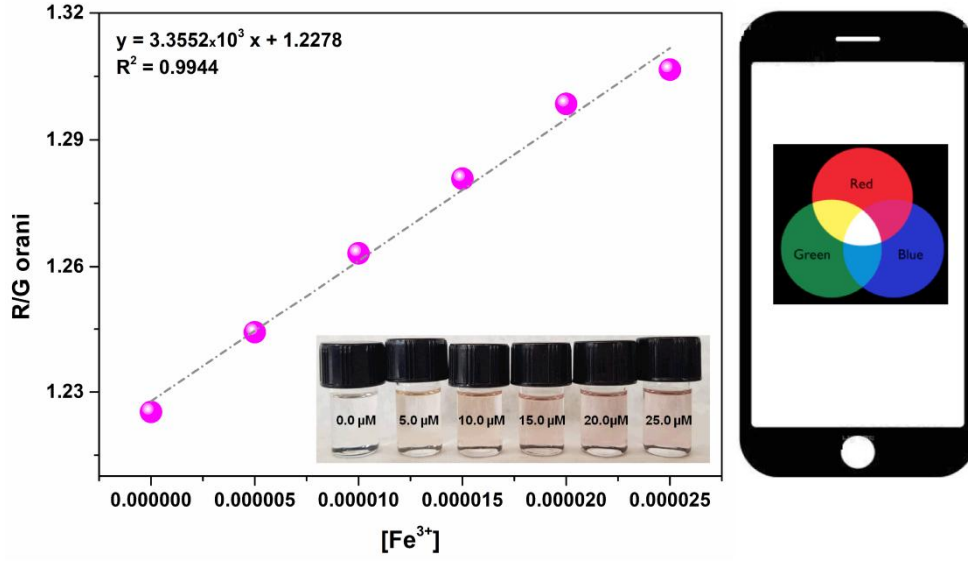
Şekil 4. 17: CTH'in Fe^{3+} iyonu ile tahmini etkileşim mekanizması.

4.2.2.7 CTH'in gerçek numunelerde Fe^{3+} tespiti için uygulama sonuçları

Fe^{3+} iyonunun pratik ve düşük maliyetli tespiti için analitik bir araç olarak Apple iPhone7 cihazı kullanılarak "akıllı telefon uygulaması" üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu platform, CTH'in RGB (kırmızı, yeşil, mavi) değerlerinde $[Fe^{3+}]$ konsantrasyonuna karşı değişiklikleri hesaplayabilen ücretsiz "Colorimeter" mobil uygulamasını kullanarak gerçek örneklerde Fe^{3+} metal iyonu tespiti için kullanılmıştır. RGB değerindeki değişiklikler, CTH'in DMF/ H_2O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) çözeltilerine Fe^{3+} ilave edilerek izlenmiştir. CTH için R/G oranları, eklenen Fe^{3+} konsantrasyonuna (0–25 μM) karşı grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.18). Elde edilen Şekil 4.18'deki grafikten görüleceği üzere, absorbans şiddeti konsantrasyon ile olumlu bir doğrusallık ($R^2= 0.944$) göstermiş, $LOD= 3.33 \times 10^{-5}$ M konsantrasyona kadar limit değeri tespit edilmiştir.

Daha sonraki aşamada, doğal kaynak su numunelerdeki Fe^{3+} iyonu tespiti için CTH'in uygulanabilirliği araştırılmıştır. CTH'in su numunelerinde Fe^{3+} iyonu tespitine karşı duyarlılığı, standart ekleme/spiking yöntemi [2.0 μM ve 4.0 μM Fe^{3+} ilavesi] kullanılarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2). Çizelge 4.2'de yer alan verilerin görüleceği üzere; Fe^{3+} metal iyonu tayini için geri kazanım ve bağıl standart sapma (RSD) değerleri, su numuneleri için sırasıyla 99.17%–107.76% ve 1.28%–3.20% arasında tespit edilmiştir. Önerdiğimiz kolorimetrik yöntemin güvenilirliğini kanıtlamak amacıyla, Fe^{3+} tayini için AAS yöntemiyle doğrulama yapılmış ve istatistiksel olarak yöntemler arası farklılıklar incelenmiştir (Çizelge 4.3). Çizelge 4.3'de yer alan değerler incelendiğinde, Null Hipotezi temelinde iki yöntemin ortalamalarının farklılıkları birbirinden önemli ölçüde farklılık tespit edilememiştir ($P<0.05$). Elde edilen sonuçlar, CTH'in çeşitli gerçek su örneklerinde

hassasiyet ve yüksek doğrulukla Fe^{3+} metal iyonu tayini için başarılı bir uygulama potansiyeli gösterdiğini göstermiştir.



Şekil 4. 18: Smartphone uygulaması kullanılarak CTH'in ($5 \mu\text{M}$) ile Fe^{3+} metal iyonunu algılama limiti çalışması sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, $\text{pH}=7$].

Çizelge 4. 2: CTH kullanılarak doğal kaynak su numunelerinde Fe^{3+} metal iyonunu tespiti ve % geri kazanım değerleri.

	Fe^{3+} eklenen ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Fe^{3+} tespit edilen ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	geri kazanım (%)	RSD (%) (n=3)
	0.00	0.0996 \pm 0.0020		2.01
doğal kaynak suyu –1	2.00	2.1319 \pm 0.0643	101.62	3.20
	4.00	4.2359 \pm 0.1000	103.41	2.36
	0.00	0.1491 \pm 0.0036		2.42
doğal kaynak suyu –2	2.00	2.1325 \pm 0.0625	99.17	2.93
	4.00	4.4595 \pm 0.0808	107.76	1.81
	0.00	0.1194 \pm 0.0015		1.28
doğal kaynak suyu –3	2.00	2.2582 \pm 0.0513	106.94	2.27
	4.00	4.2799 \pm 0.0776	104.01	1.81

Çizelge 4. 3: CTH kullanılarak doğal kaynak su numunelerinde Fe³⁺ metal iyonunun tespiti ve elde edilen verilerin AAS yöntemi ile karşılaştırılarak yöntemin üstünlüğünün kanıtlanması.

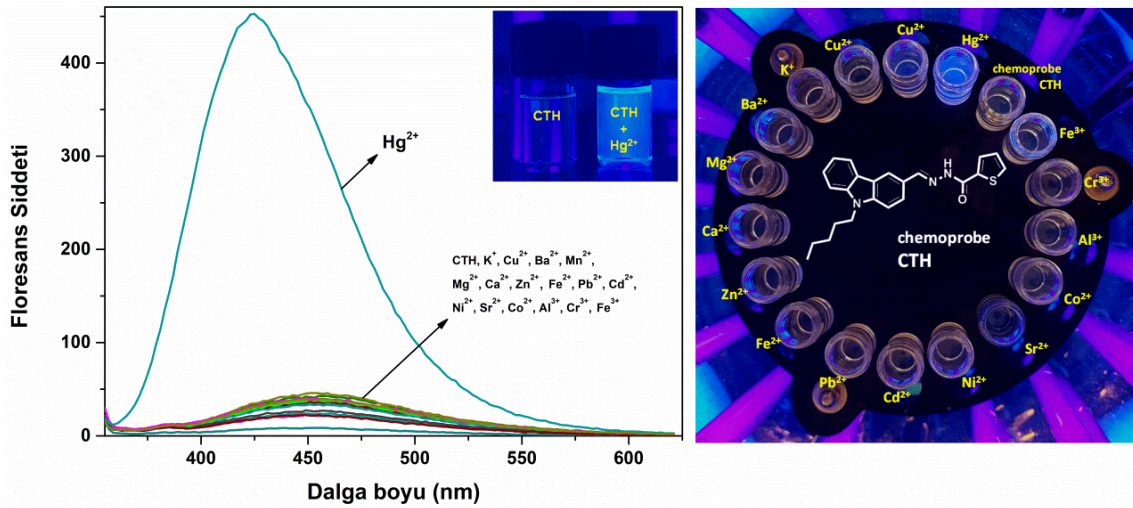
	Fe ³⁺ (µmol.L ⁻¹)		ortalamalar arası fark	İstatistik değerlendirme (df=2)		
	CTH	AAS		T _{istatistik}	olasılık> t	
doğal kaynak suyu -1	0.0996 ±0.0020	0.0978 ±0.0018	-0.0003	-0.3529	0.7578	
doğal kaynak suyu -2	0.1491 ±0.0036	0.1508 ±0.0048	0.0047	-1.6075	0.2492	<i>t bulunan > t tespit edilen</i>
doğal kaynak suyu -3	0.1194 ±0.0015	0.1149 ±0.0045	0.0030	1.5126	0.2695	

† ortalama(1)– ortalama(2) = 0, Null Hipotezi temelinde; ortalama(1)–orta(2) <> 0 Alternatif Hipoteze dayalı; ortalamaların farklılaşması, test varyasyonu (0) ile istatistiksel açıdan önemli ölçüde farklı DEĞİLDİR (0.05 düzeyinde)

4.2.3 CTH'nin Hg^{2+} iyonuna karşı floresans sensör çalışma sonuçları

4.2.3.1 CTH'nin Hg^{2+} ve diğer metal iyonlarına karşı duyarlılık çalışma sonuçları

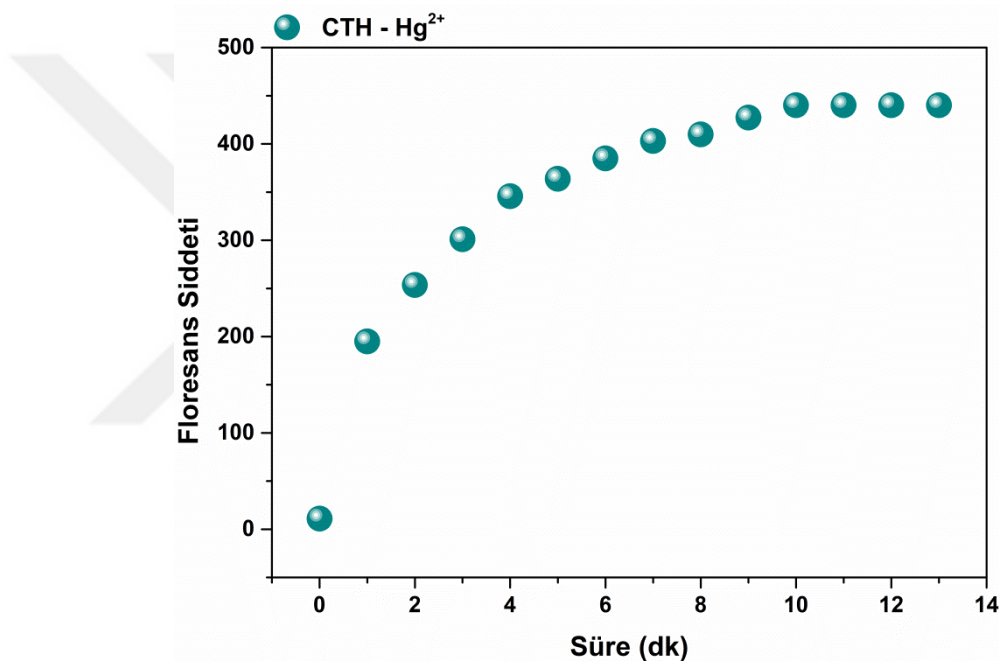
CTH'nin DMF/ H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında metal iyonlarına olan duyarlılığı, farklı metal iyonlarının ($M=Hg^{2+}$, Fe^{3+} , Ca^{2+} , K^+ , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} ve Co^{2+}) çözeltileri kullanılarak araştırılmıştır. CTH için elde edilen spektrumda 429 nm dalga boyunda emisyon şiddetinde artış tespit edilmiştir (Şekil 4.19). Şekil 4.19'da görüldüğü gibi, CTH çözeltisine her bir metal çözeltisi ayrı ayrı eklenerek floresans duyarlılık çalışması gerçekleştirilmiştir. CTH içeren çözeltilere metal çözeltileri eklendikten sonra, sadece Hg^{2+} metal çözeltisi varlığında 429 nm dalga boyunda yeni ortaya çıkan bir emisyon bandı elde edilmiştir. CTH'nin emisyon bandında floresans şiddetindeki artış (*turn-on*) oranının yani duyarlılığının Hg^{2+} iyonuna karşı olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık, diğer metal iyonları CTH'nin spektrumlarında önemsiz emisyon değişikliklerine neden olmuştur. Elde edilen sonuçlar, CTH'nin analiz edilen diğer metal iyonlarına kıyasla Hg^{2+} iyonuna karşı iyi bir floresans duyarlılığına sahip olduğunu göstermiştir.



Şekil 4. 19: CTH (5 μ M) metal iyon duyarlılık çalışması sonucu elde edilen floresans şiddetleri [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

4.2.3.2 CTH'ın Hg²⁺ metal iyonuna cevap süresinin tespitine dair sonuçlar

CTH'ın DMF/H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında Hg²⁺ iyonuna optimum cevap değerini belirlemek için, sensör çözeltisine (5×10⁻⁶ M) 10 ekivalent miktarda Hg²⁺ iyon çözeltisi eklenerek farklı süre değerlerinde 429 nm dalga boyunda emisyon spektrumları elde edilmiştir. En uygun cevap süresinin, Hg²⁺ çözeltisinin eklenmesinin ardından maksimum emisyon artışının elde edildiği yaklaşık süre değeri yani 8 dakika olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.20) ve devam eden spektroskopik çalışmalarda oda sıcaklığı ve 8 dakika deney süresi uygulanmıştır.

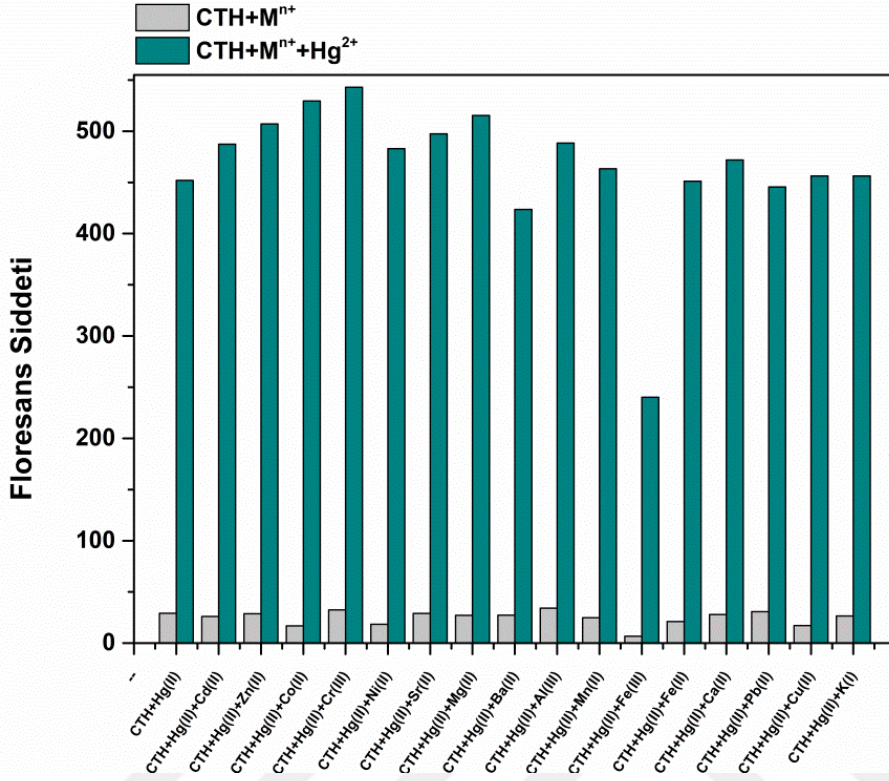


Şekil 4. 20: CTH'ın Hg²⁺ iyonuna floresans cevap süresinin tespiti [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

4.2.3.3 CTH'ın Hg²⁺ yanında diğer metal iyonlarına karşı seçicilik çalışma sonuçları

CTH'ın DMF/ H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında metal iyonlarına olan seçiciliğinin tespit çalışmasında; Hg²⁺ varlığında, farklı metal iyonlarına ($M=Hg^{2+}, Fe^{3+}, Ca^{2+}, K^+, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}, Ba^{2+}, Al^{3+}, Cr^{3+}, Sr^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}, Ni^{2+}$ ve Co^{2+}) olan cevap değerleri incelenmiştir. Hg²⁺ iyonu varlığında, CTH'a diğer metal iyonlarının ayrı ayrı eklenmesiyle 429 nm'deki

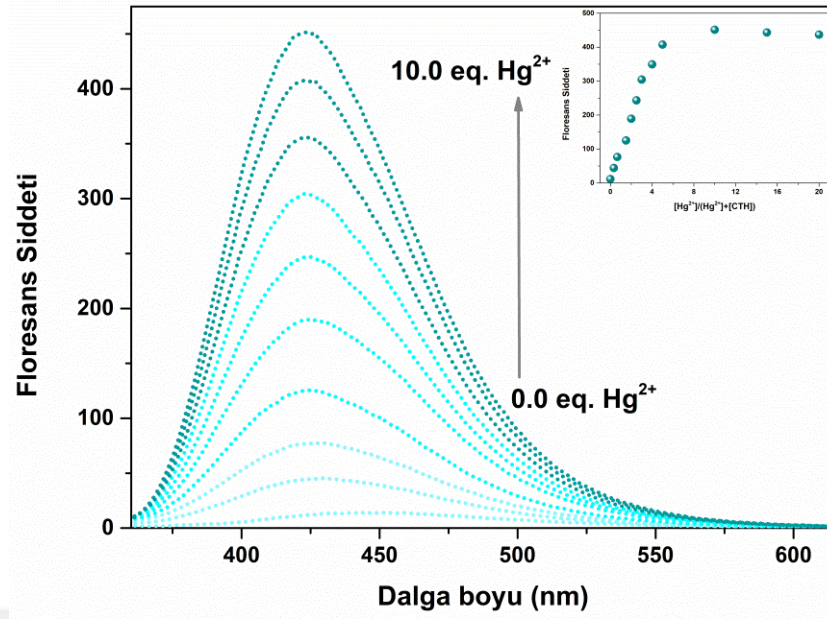
emisyon şiddetinde artış göstermiş, dolayısıyla Hg^{2+} iyonuna karşı geliştirilen floresans sensörün oldukça seçici olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4. 21: CTH'in (5 µM) farklı metal iyonları varlığında Hg^{2+} iyonuna karşı seçicilik çalışması sonucu elde edilen emisyon şiddetleri [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

4.2.3.4 CTH'in Hg^{2+} metal iyonu ile titrasyon çalışma sonuçları

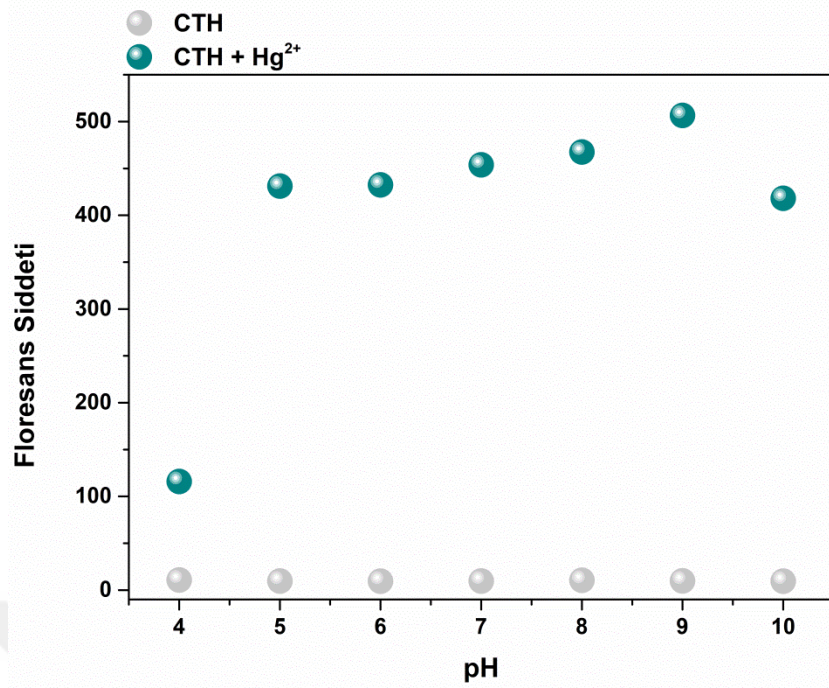
CTH çözeltisine farklı derişimlerde Hg^{2+} iyonu içeren çözeltiler (0–10 ekivalent) sırayla eklenerek, sensörün DMF/ H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında Hg^{2+} iyonu derişimine karşı floresans duyarlılığı incelenmiştir. 5×10^{-6} M konsantrasyondaki CTH çözeltisine, ardışık olarak Hg^{2+} (0.0–10.0 ekivalent) eklenmesi, 429 nm'deki emisyon bandının düzenli olarak artışına ve bir platoya ulaşmasına neden olmuştur. Sonuç olarak, sadece 10 ekivalent Hg^{2+} iyonu çözeltisi eklendiğinde 429 nm'deki floresans şiddetinde maksimum artış tespit edilmiş ve doygunluk derecesine ulaşıldığı kanaatine varılmıştır (Şekil 4.22). Bu durumun, Hg^{2+} iyonuna karşı imin (C=N grup) hidroliz reaksiyon mekanizması üzerinden yüksek oranda seçicilik göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4. 22: CTH'in (5 μM) Hg^{2+} iyonu ile (0–10.0 eq.) floresans titrasyon çalışması sonucu elde edilen emisyon şiddetleri [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

4.2.3.5 CTH'in Hg^{2+} iyonuna cevabında pH etkisine dair sonuçlar

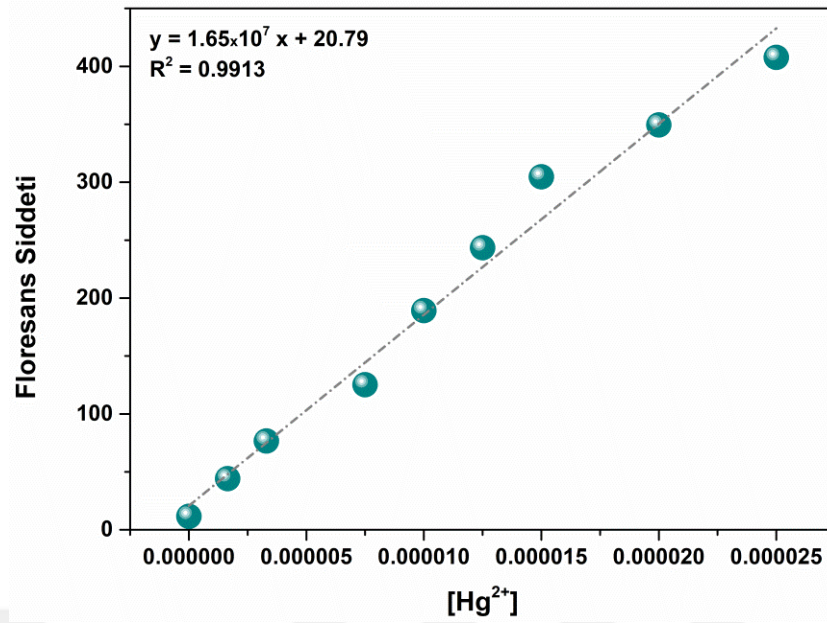
CTH'in Hg^{2+} iyonuna olan cevap değerinde optimum çalışma pH değerini/aralığını belirlemek için farklı pH değerlerinde, sensör çözeltisine Hg^{2+} eklenerek floresans spektrumları elde edilmiştir. En uygun pH değeri/aralığının Hg^{2+} eklenmesinin ardından maksimum emisyon artışının elde edildiği pH aralığı yani pH=5.0–10.0 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.23) ve devam eden spektroskopik çalışmalarda Britton–Robinson tamponunun pH=7.0 kullanıldığı DMF/ H_2O (90/10, v/v) çözücü sistemi kullanılmıştır.



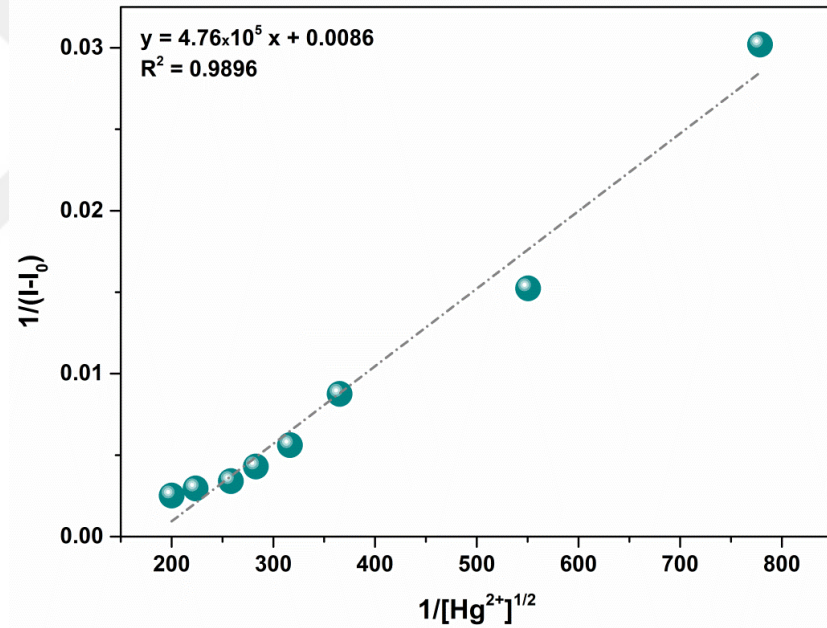
Şekil 4. 23: CTH'in (5 µM) ile Hg²⁺ iyonunu algılamasına pH etkisine dair elde edilen çalışma sonucu [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

4.2.3.6 CTH'ın Hg²⁺ iyonuna karşı bağlanma sabiti ve algılama limiti değerlerinin tespit sonuçları

Floresans titrasyon çalışmasından elde edilen veriler kullanılarak, CTH'ın Hg²⁺ iyonu molar konsantrasyonuna [Hg²⁺] ve 1/[Hg²⁺]^{1/2}'e karşı kalibrasyon grafikleri elde edilmiştir (Şekil 4.24 ve 4.25). Emisyon şiddetinde, artan derişimlerdeki Hg²⁺ iyonuna karşı doğrusal artış tespit edilmiştir. LOD değeri elde edilen grafikten hesaplanmıştır [$LOD=3 \times \sigma/K$]. LOD ile ifade edilen tayin limiti, σ kör sinyalin standart sapmasını ve K ise kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir. Elde edilen veriler doğrultusunda LOD değeri 5.10 nM olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.24). Ayrıca CTH–Hg²⁺ kompleksinin bağlanma sabiti (log Ka) değeri, Benesi–Hildebrand grafiğine bağlı olarak $1.8 \times 10^3 M^{-2}$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.25).



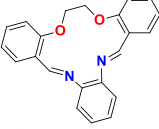
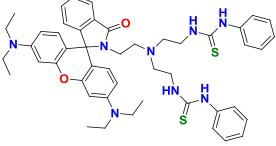
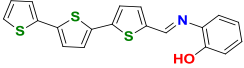
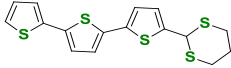
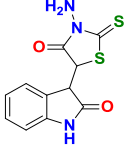
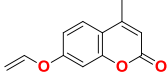
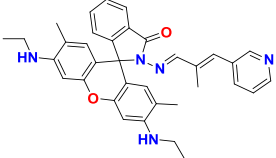
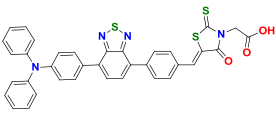
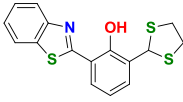
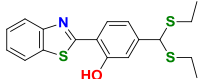
Şekil 4. 24: CTH'in (5 µM) ile Hg²⁺ iyonunu algılama limiti çalışması sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

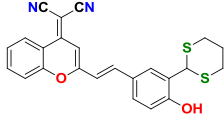
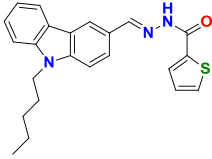


Şekil 4. 25: CTH'in (5 µM) ile Hg²⁺ iyonunu ile bağlanma sabitinin tespiti için elde edilen Benesi–Hildebrand kalibrasyon grafiği [DMF/ H₂O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

CTH'in DMF/ H₂O (90/10, v/v, Britton–Robinson tamponu, pH=7) ortamında Hg²⁺ metal iyonuna olan floresans sensör performansı, literatüre sunulan/geliştirilen kolorimetrik ve floresans sensörler ile karşılaştırıldığında; çözücü ortamı, LOD değeri, bağlanma sabiti değeri ve uygulamaları bakımından önemli üstünlüklere sahip olduğu açıkça görülmektedir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4. 4: Hg²⁺ metal iyonunu tespiti için geliştirilen kolorimetrik ve floresans sensörler ile CTH performansının karşılaştırılması.

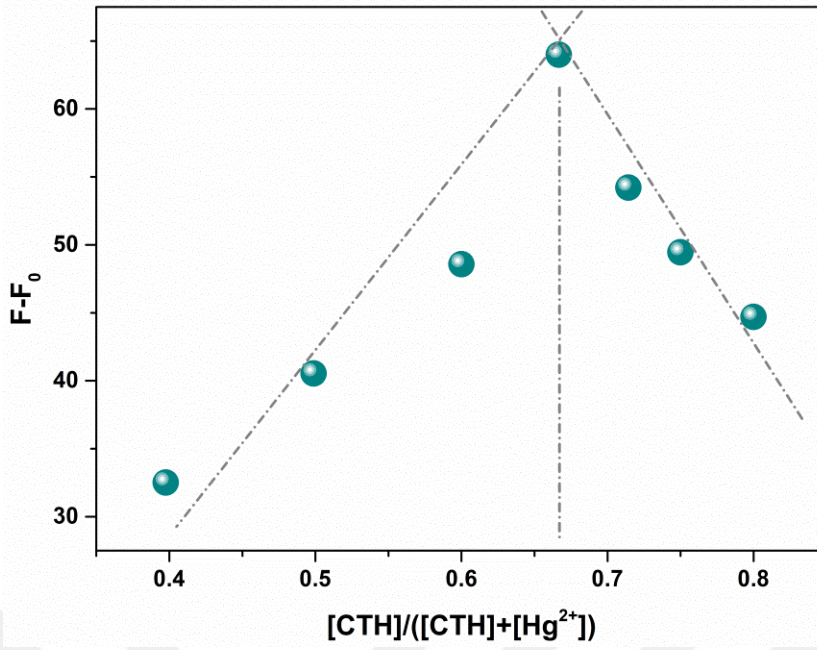
Hg ²⁺ tayini için sensör	Sinyal prosesi	Çözücü ortamı	LOD (M)	Test kağıdı	Smart App	Kaynak
	FL "turn off" Kolorimetrik	EtOH/H ₂ O (1:99, v/v)	5.36 x 10 ⁻⁸	yok	yok	(Afshani ve ark., 2016)
	FL "turn on" Kolorimetrik	CH ₃ CN : H ₂ O (1:99, v/v)	60.78 x10 ⁻⁹	var	yok	(Hong ve ark., 2016)
	FL "turn on"	DMSO/H ₂ O (1:1, v/v)	61.7 x 10 ⁻⁹	yok	yok	(Lan ve ark., 2017)
	FL "turn on" Kolorimetrik	EtOH : H ₂ O (1:1, v/v)	62.0 x 10 ⁻⁹	var	yok	(Yin ve ark., 2019)
	FL "turn on" Kolorimetrik	CH ₃ CN : H ₂ O (9:1, v/v)	2.36 x 10 ⁻⁶	yok	yok	(Bayindir, 2019)
	FL "turn on"	CH ₃ CN/H ₂ O (1:1, v/v) HEPES tampon)	1.2 x 10 ⁻⁷	yok	yok	(Wu ve ark., 2017)
	FL "turn on" Kolorimetrik	CH ₃ CN/H ₂ O (7:3, v/v)	4.60 x 10 ⁻⁶	yok	yok	(Lee ve ark., 2014)
	FL "turn on" Kolorimetrik	THF/H ₂ O (9:1, v/v)	13.10 x 10 ⁻⁹	yok	yok	(He ve ark., 2020)
	FL "turn on"	Sitrat tamponu/ CH ₃ CN (1:1, v/v)	2.0 x 10 ⁻⁷	yok	yok	(Chang ve ark., 2017)
	FL "turn on"	HEPES/EtOH (1: 1, v/v)	1.59x10 ⁻⁸	yok	yok	(Zhou ve ark., 2017)

	FL "turn on" Kolorimetrik	PBS–DMSO (10 mM, pH 7.4, 1: 1, v/v)	68.0×10^{-9}	var	yok	(Huang ve ark., 2019)
	FL "turn on"	H ₂ O/DMF (1:9, v/v)	5.10×10^{-9}	var	var	CTH

4.2.3.7 CTH'nin Hg²⁺ iyonu ile kompleks sitokiyometriye tespiti

Hg²⁺ iyonuna seçimli olarak floresans sensör özelliği gösteren **CTH**'in, Hg²⁺ iyonu ile oluşturduğu kompleks bileşik hakkında bilgi edinmek için Job's plot (mol oran), ¹H–NMR titrasyon, MALDI TOF–MS ve ATR–FTIR spektrumlarındaki değişimler incelenmiştir (Şekil 4.26–4.30). Job's plot (mol oran) metodunda elde edilen iki lineer doğru kesiştirilmiş ve kesim noktasına karşılık gelen mol kesirlerinin oranı 0.66 olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.26'dan anlaşıldığı gibi, hesaplanan mol oranı 0.66 bulunmuş yani, **CTH–Hg²⁺** kompleksi 2:1 sitokiyometri ile bağlanma gösterdiği tespit edilmiştir.

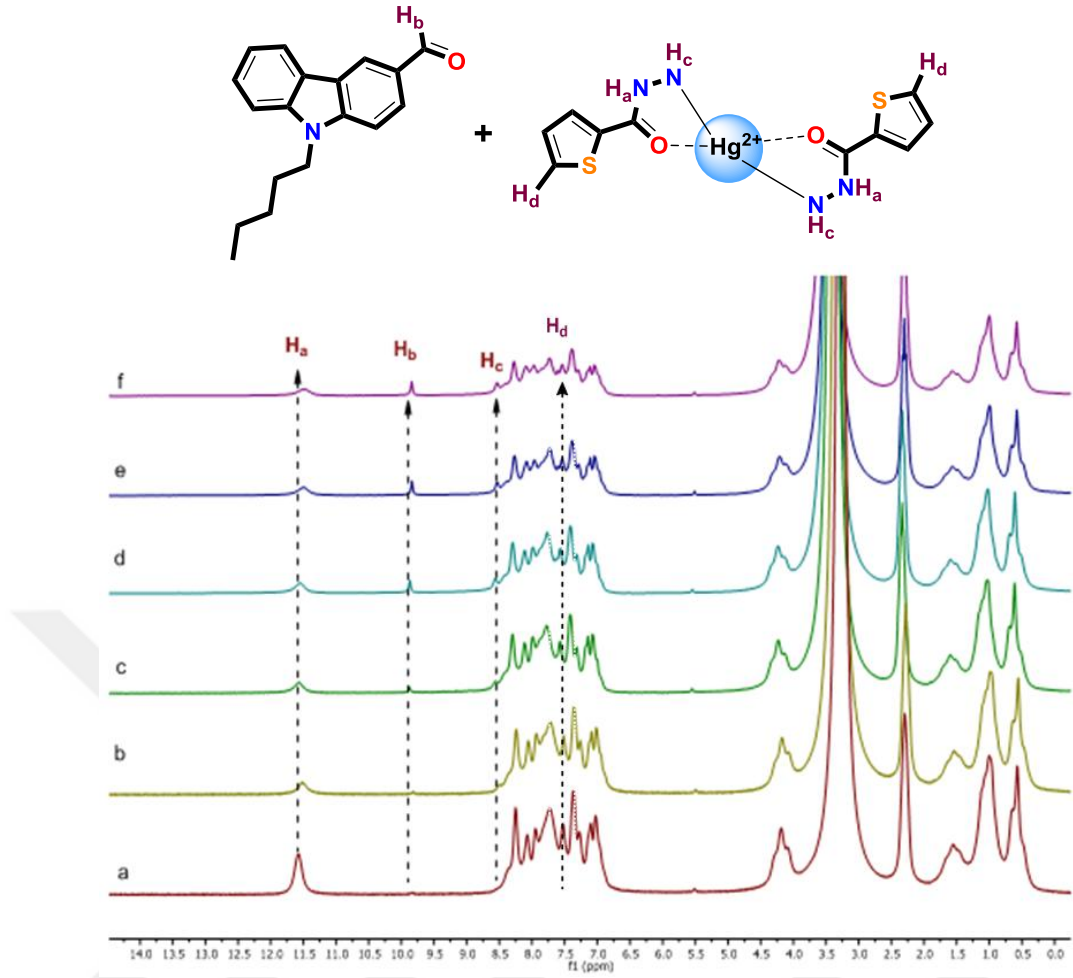
CTH'in çözeltisi üzerine farklı konsantrasyonlardaki Hg²⁺ metal iyonu çözeltileri (0.0–2.5 ekivalent) ilave edilerek, karışımların ¹H–NMR titrasyon yöntemi ile spektrumu alınmıştır (Şekil 4.27). Elde edilen ¹H–NMR spektrumunda aldehit pikinin (Hb) 9.6 ppm'de ve NH (Hc) pikinin 8.6 ppm'de ortaya çıkması, molekülün parçalandığını göstermektedir. Ayrıca tiyofende kayma olmaması C–H(Hd)(7.57 ppm) C–H(Hd)tiyofende S atomunun koordinasyona katılmadığını göstermektedir. Bu şekilde, Hg²⁺ metal iyonu ile **CTH**'in mekanizmasının imin hidrolizine bağlı olduğunu göstermektedir. Metal iyonlarının bağlanmasının imin hidrolizini başlattığı ve bunun da aldehit ve NH₂ birimlerinin oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (Şekil 4.28).



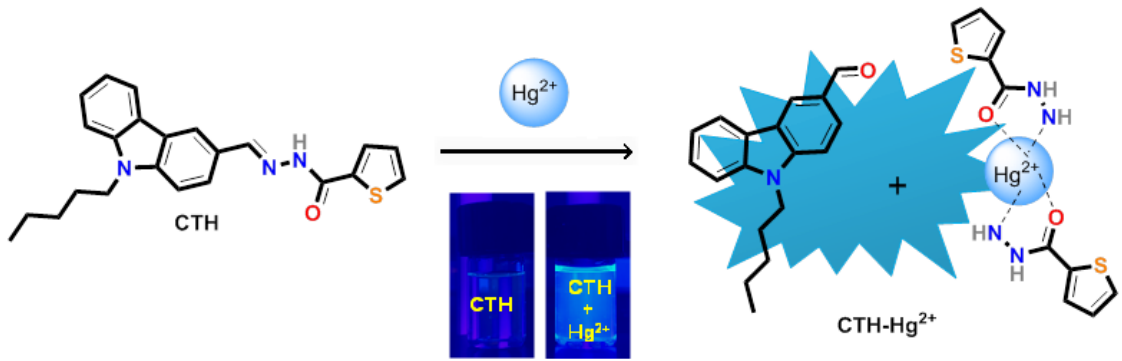
Şekil 4. 26: Job's metodu ile **CTH**'in Hg^{2+} iyonu ile kompleks stokiometrisinin tespiti [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7] [a] **CTH** b) **CTH** + Hg^{2+} (0.5 eq.) c) **CTH** + Hg^{2+} (1.0 eq.) d) **CTH** + Hg^{2+} (1.5 eq.) e) **CTH** + Hg^{2+} (2.0 eq.) f) **CTH** + Hg^{2+} (2.5 eq.)].

CTH'ın çözeltisi üzerine Hg^{2+} iyon çözeltisi ilave edilerek karışımın MALDI TOF–MS sistemi ile kütle spektrumu alınmıştır (Şekil 4.29). Şekil 4.29'dan görüldüğü üzere, m/z: 265'teki pik, **CTH**– Hg^{2+} kompleksinde görülen C=N grubunun hidroliz etkileşimi sonucunda oluşan 9–pentil–9H–karbazol–3–karbaldehit fragmanına aittir. Elde edilen kütle spektrumunda m/z: 485.966'daki pik [2•tiyofen hidrazit+Hg], Hg^{2+} ile tiyofen hidrazit grubu tarafından verilen 2:1 kompleksine aittir. **CTH**'ın Hg^{2+} ile önerilen bağlanma mekanizması, C=O grubundaki oksijen atomu ve HC=N grubundaki nitrojen atomu üzerinden meydana gelmektedir (Şekil 4.28).

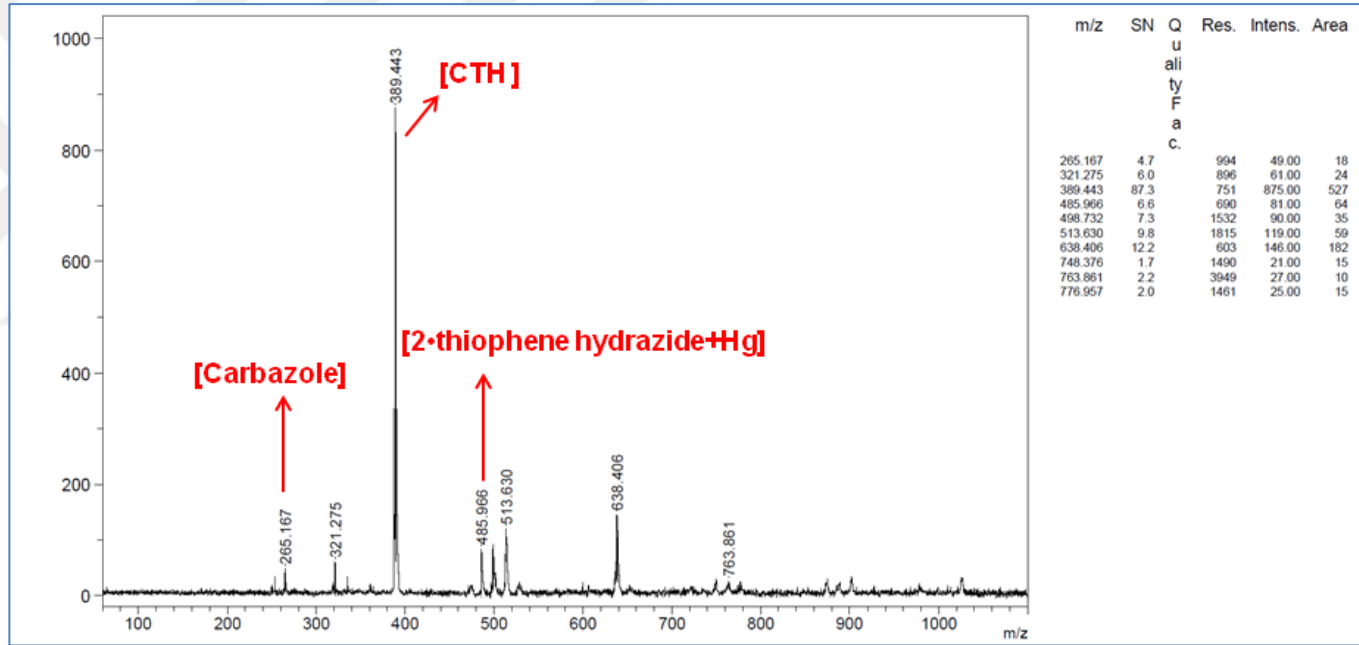
Elde edilen ATR–FTIR spektrumunda ise; **CTH**'in 1648 cm^{-1} 'deki hidrazit karbonil piki, Hg^{2+} metal iyonu çözelti ilavesiyle 1663 cm^{-1} 'e kaymış ve 1596 cm^{-1} 'deki C=N piki **CTH**– Hg^{2+} kompleksinin oluşumundan sonra kaybolmuştur (Şekil 4.30).



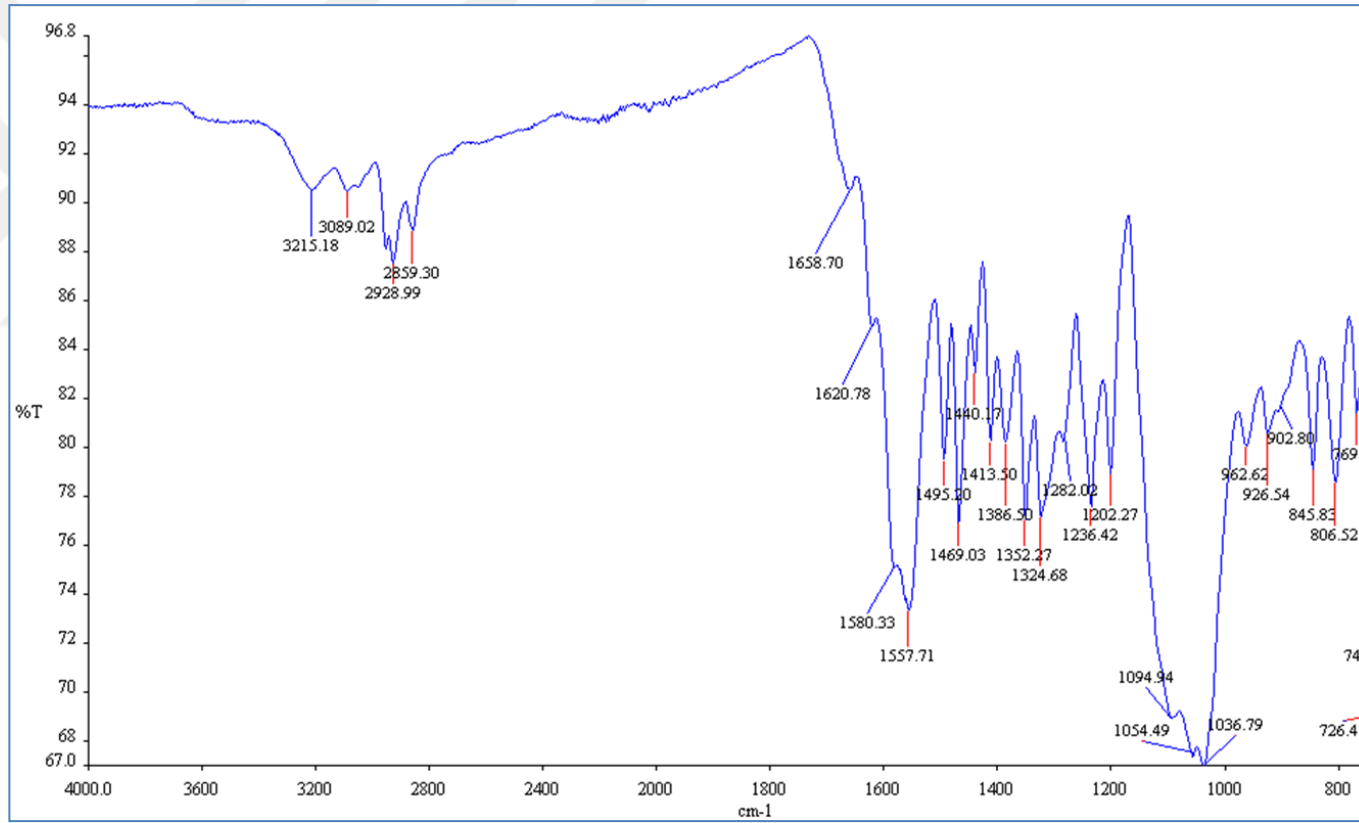
Şekil 4. 27: 1H -NMR titrasyon yöntemi ile CTH'in Hg^{2+} metal iyonu ile etkileşim mekanizmasının tespiti.



Şekil 4. 28: CTH'in Hg^{2+} iyonu ile tahmini etkileşim mekanizması.



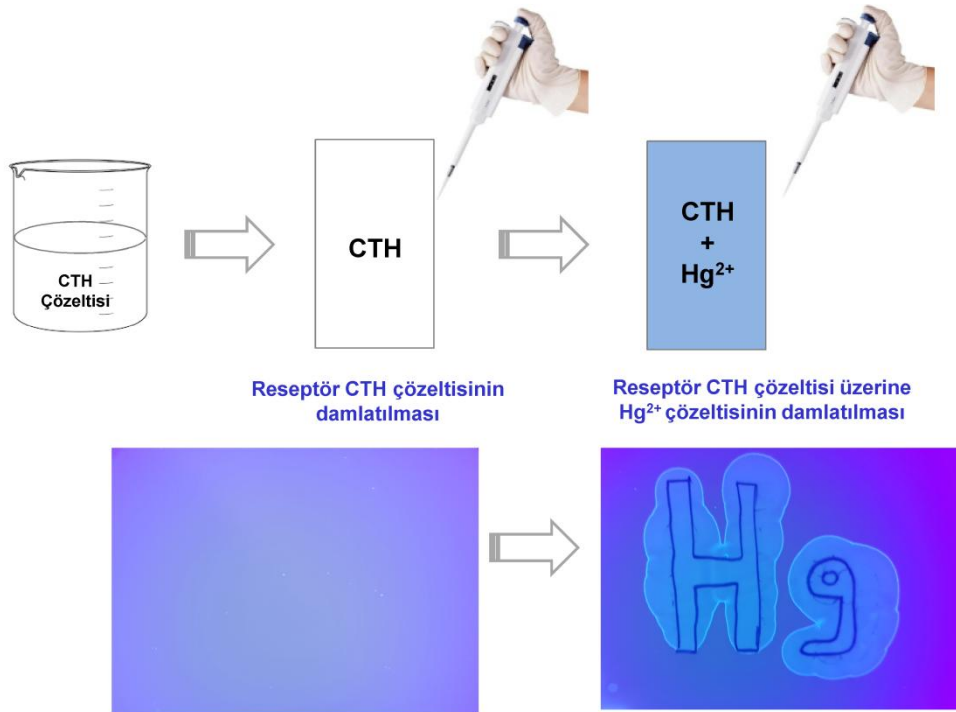
Şekil 4. 29: CTH-Hg²⁺ kompleksinin MALDI TOF-MS spektrumu.



Şekil 4. 30: CTH-Hg²⁺ kompleksinin ATR-FTIR spektrumu.

4.2.3.8 CTH'in Hg^{2+} gerçek numunelerde tespiti için uygulama sonuçları

CTH'in test kağıdı uygulanabilirliği için "daldırma-kaplama" yöntemi kullanılarak deneysel uygulama gerçekleştirilmiştir. Silika kaplı İTK levhası kullanılarak, Hg^{2+} metal iyonu tespiti için test kağıdı uygulanmıştır. İTK plakası, CTH çözeltisine daldırılmış, daha sonra havada kurutulmuş, bu prosedürü takiben " Hg^{2+} duyarlı test kağıdı" performansı, floresan ışığı altında değerlendirilmiştir. İki silika jel plakası, temiz bir plakanın ~0.5 dakika boyunca CTH çözeltisine daldırılması ve ardından havada kurutulmasıyla kolayca üretilmiştir. Daha sonra plakalardan biri sırayla oda sıcaklığında Hg^{2+} metal çözeltisi ile muamele edilmiştir. Plakaların serbest sensör çözeltisine daldırılmasının floresans ışığı altında herhangi bir renk değişikliği göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 4.31). Buna karşılık, Hg^{2+} çözeltisine daldırılmış fırça ile plakaya " Hg^{2+} " yazıldıktan sonra, şekilde gösterildiği gibi " Hg^{2+} " kelimesini gösteren CTH için mavi floresan gözlenmiştir. Sonuç olarak, CTH molekülü ile elde edilen İTK plakasının, Hg^{2+} 'yi kalitatif olarak tespit etmek için taşınabilir bir cihaz olarak kullanılabilmesi kanaatine varılmıştır.



Şekil 4. 31: Test kâğıdı uygulaması kullanılarak CTH'in ($5 \mu M$) ile Hg^{2+} metal iyonunu algılama çalışması [DMF/ H_2O (90/10, v/v), Britton–Robinson tamponu, pH=7].

Daha sonraki aşamada ise, doğal kaynak su numunelerdeki Hg^{2+} metal iyonu tespiti için CTH'in uygulanabilirliği araştırılmıştır. CTH'in su numunelerinde Hg^{2+} metal

iyonu tespitine karşı duyarlılığı, standart ekleme/spiking yöntemi [0.1 μM ve 0.2 μM Hg^{2+} ilavesi] kullanılarak değerlendirilmiştir (**Çizelge 4.5**). **Çizelge 4.5**'de yer alan verileren görüleceği üzere; Hg^{2+} metal iyonu tayini için geri kazanım ve bağlı standart sapma (RSD) değerleri, su numuneleri için sırasıyla 101.27%–110.26% ve 1.64%–3.85% arasında tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, **CTH**'ın çeşitli gerçek su örneklerinde hassasiyet ve yüksek doğrulukla Hg^{2+} metal iyonu tayini için başarılı bir uygulama potansiyeli gösterdiğini göstermiştir.

Çizelge 4. 5: **CTH** kullanılarak doğal kaynak su numunelerinde Hg^{2+} metal iyonunu tespiti ve % geri kazanım değerleri.

	Hg^{2+} eklenen ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Hg^{2+} tespit edilen ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	geri kazanım (%)	RSD (%) (n=3)
	0.00	0.0069 \pm 0.0002		3.01
doğal kaynak suyu –1	0.10	0.1098 \pm 0.0020	102.85	1.82
	0.20	0.2147 \pm 0.0035	103.90	1.64
	0.00	0.0070 \pm 0.0003		3.59
doğal kaynak suyu –2	0.10	0.1083 \pm 0.0042	101.27	3.85
	0.20	0.2275 \pm 0.0055	110.26	2.42
	0.00	0.0064 \pm 0.0001		2.39
doğal kaynak suyu –3	0.10	0.1114 \pm 0.0025	105.03	2.20
	0.20	0.2214 \pm 0.0064	107.51	2.90



5. SONUÇ

Sunulan tez çalışması kapsamında metal iyonlarına duyarlı, yüksek analitik performansa sahip, farklı dalga boylarında ışığa yapabilecek özgün kimyasal yapıya sahip karbazol esaslı optik sensör sisteminin hazırlanarak gerçek numunelere uygulama üzerine oldukça kapsamlı ve sistematik bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Metal iyonlarının analizi için voltametri, titrimetri, elektrokimya, potansiyometri, kromatografi gibi metotlar kullanılmaktadır. Ancak bu metotlar zahmetli, karmaşık ve zaman alıcı örnek hazırlama aşamaları ve uzman kullanıcı gerektiren pahalı cihazların kullanımını gerektirmektedir. Zaman alıcı ve zahmetli bu yöntemlerin aksine yüksek duyarlılığa, seçiciliğe ve hızlı cevap süresine sahip olan ve nispeten daha kolay örnek hazırlama ve basit spektroskopi sistemlerinin gerektiren kolorimetrik ve florometrik sensör yöntemleri ile metal iyonlarını tayin etmek mümkündür.

- Çalışmanın ilk aşamasında detayları yöntem kısmında verilen ve yapısında metal iyonu tayininde kullanılan mekanizmaları gerçekleştirebilecek fonksiyonel gruplara sahip özgün karbazol temelli molekül (**CTH**) başarılı şekilde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Karakterizasyon işlemlerinde $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C APT-NMR}$, ATR-FTIR ve MALDI TOF-MS spektroskopi yöntemleri kullanılmıştır.
- Çalışmanın ikinci aşamasında; sentezlenen **CTH** molekülünün fotofiziksel özelliklerini belirlemek amacıyla, UV-Vis ve floresans spektroskopisi ile metal iyonlarına duyarlı olup olmadıkları detaylı olarak araştırılmış ve özgün analitik yöntemler geliştirilmiştir. Hazırlanan **CTH** sisteminin metal iyonlarına olan absorpsiyon ve emisyon cevapları incelenerek, sinyallere çözücü etkisi, metal türü, tayin limiti, pH etkisi, cevap süresi ve diğer metallere karşı seçiciliği gibi parametreler incelenmiştir. Detaylı spektroskopik çalışmalar neticesinde Sensör **CTH**'ın Fe^{3+} metal iyonuna karşı kolorimetrik sensör, Hg^{2+} metal iyonuna karşı ise C=N grup hidroliz reaksiyon mekanizması üzerinden yüksek oranda seçimli floresans sensör özelliği gösterdiği kanıtlanmıştır. **CTH-Fe³⁺** arasındaki bağlanma oranı 1:1, **CTH-Hg²⁺** için ise 2:1 olarak belirlenmiştir. Tayin limitleri **CTH-Fe³⁺** ve **CTH-Hg²⁺** için sırayla 5.89 μM ve 5.10 nM olarak tespit edilmiştir.

- Çalışmanın üçüncü aşamasında ise; sentezlenen **CTH**'ın Fe^{3+} ve Hg^{2+} metal iyonları için pratik uygulanabilirlik çalışmaları ise doğal kaynak su numuneleri, test kitleri ve akıllı telefon (Smartphone Free App., Colorimeter) üzerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir.

Sonuç olarak, tez kapsamında sentezlenen karbazol temelli **CTH**'ın, metal iyonu algılama özelliği açısından düşük algılama limit değerleri ile sadece Fe^{3+} ve Hg^{2+} iyonları için seçimli, hızlı cevap süreli ve gerçek numunelere uygulanabilir olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların, karbazol temelli moleküller ile çalışan moleküler sensör tasarımcı araştırmacılara katkı sağlayıcı ve yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.



KAYNAKLAR

- Afshani, J., Badieli, A., Karimi, M., Lashgari, N., (2016). A single fluorescent sensor for Hg^{2+} and discriminately detection of Cr^{3+} and Cr (VI). *J. Fluoresc.* 26, 263-270 .
- Aydın, K., (2018). Biyolojik Tiyollerin Tayini İçin Perilen Türevi Temelli Floresans Sensörlerin Geliştirilmesi. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fen Bilimleri ve Teknolojileri ABD.*
- Bakar, C., Baba, A, (2009). Metaller ve İnsan Sağlığı Yirminci Yüzyıldan Bugüne ve Geleceğe Miras Kalan Çevre Sağlığı Bld., Kültür Merkezi, Ürgüp-Nevşehir, Türkiye.
- Binglin, S., Simon, T., Taihong, L., Bosung, K., Kevin D.B., (2014). Novel BODIPY-Based Fluorescence Turn-on Sensor for Fe^{3+} and Its Bioimaging Application in Living Cells, *ACS Appl Mater. Interfaces* 6, 18408
- Birimkulova, A., (2017). Biyolojik tiyol analizinde kullanılan bazı florojenik moleküllerin fotofiziksel özelliklerinin incelenmesi, *Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD.*
- Bouaziz, Z., Issa, S., Gentili, J., Gratz, A., Bollacke, A., Kassack, M., (2014). Biologically active carbazole derivatives: focus on oxazinocarbazoles and related compounds. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 30, 180-188.
- C. Wu, J. Wang, J. Shen, C. Bi, and H., (2017). Zhou, Coumarin-based Hg^{2+} fluorescent probe: Synthesis and turn-on fluorescence detection in neat aqueous solution, *Sensors Actuators B. Chem.* 243, 678-683
- Chai M., Zhang D., Wang M., Hong H., Ye Y., Zhao Y. (2012). Four Rhodamine B-based fluorescent chemosensor for Fe^{3+} in aqueous solution. *Sensors Actuators, B Chem.* 174, 231-236 .
- Chang, I. J., Hwang, K. S., Chang, S., (2017). Selective Hg^{2+} signaling via dithiane to aldehyde conversion of an ESIPT fluorophore. *Dye. Pigment.* 137, 69-74 .
- Chaudhary, S., Milton, M.D., (2018). Dicationic imidazolium salts as fluorescent probes for selective detection of Fe^{3+} ion in pure aqueous media. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 356, 595-602 .
- Chen B., Zeng Y., Hu B., (2010). Study on speciation of aluminum in human serum using zwitterionic bile acid derivative dynamically coated C18 column HPLC separation with UV and on-line ICP-MS detection, *Talanta*, 81, 180-186.
- Çağlı, M., (2014). Sübstitüe Karbazollerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Hesapsal Çalışmaları *Yüksek Lisans Tezi*, Balıkesir Üniversitesi.
- Dehmelt, L., Bastiaens, P.I., (2010). Spatial Organization of Intracellular Communication: Insights from Imaging, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11, 440-452.

- Deshpande, S., (2001). Principles and Applications of Luminescence Spectroscopy, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41, 155-224.
- Drummen, G.P.C., (2012). Fluorescent Probes and Fluorescence (Microscopy) Techniques Illuminating *Biological and Biomedical Research, Molecules*, 17, 14067-14090
- Duffus, J.H., (2002). Heavy metals a meaningless term IUPAC Technical Report, *Pure and Applied Chemistry*, 74:793-807.
- Erden, Ç., (2018). Karbazol Türevli Maddelerin Sentezlenmesi, Karakterizasyonu ve Güneş Pili Uygulamaları. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD*.
- Erkmen, O., (2010). Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 53(3),220-235.
- Goshisht, M. K., Patra, G. K., Tripathi, N., (2022). Fluorescent Schiff base sensors as a versatile tool for metal ion detection, *strategies, mechanistic insights, and applications. Mater. Adv.*, 3, 2612
- Guliyev, R., (2008). Rational Design of Ratiometric Chemosensor via Modulation of Energy Donor Efficiency, *Yüksek Lisans Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara*.
- Gündoğdu, L., Şen, N., Gündoğdu Hızlıateş, C., Ergün, M.Y., (2017). Synthesis and Spectroscopic Properties of Carbazole ,Oxadiazoles, *J Fluoresc* , 27:2095–2100.
- Güngör, A. (2017). Schiff Bazı Türevleri Kullanılarak Metal İyonuna Duyarlı Yeni Optik Sensörlerin Geliştirilmesi *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Karaman*.
- He, H., Meng, X., Deng, L., Sun, Q., Huang, X., Lan, N., Zhao, F., (2020). A novel benzothiadiazole-based and NIR-emissive fluorescent sensor for detection of Hg²⁺ and its application in living cell and zebrafish imaging. *Org. Biomol. Chem.* 18, 6357-6363 .
- Hong, M., Lu, X., Chen, Y., Xu, D., (2016). A novel rhodamine-based colorimetric and fluorescent sensor for Hg²⁺ in water matrix and living cell. *Sensors Actuators B. Chem.* 232, 28-36 .
- Huang, L., Yang, Z., Zhou, Z., Li, Y. S., Xiao T. W., Hu, M., Peng, C., Chen, Y., Gu, B., Li, H., (2019). A dual colorimetric and near-infrared fluorescent turn-on probe for Hg²⁺ detection and its applications. *Dye. Pigment.* 163, 118.
- Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination, *British medical bulletin*, 68(1):167-182.
- Jung, H.J., Singh, N., Lee, D.Y., Jang, D.O., (2010). Single sensor for multiple analytes: chromogenic detection of I⁻ and fluorescent detection of Fe³⁺. *Tetrahedron Lett.* 51, 3962-3965.
- Karuk Elmas, Ş. N. (2019). Biyotiyollerin Tayini için Perilen Diimid Temelli Floresans Problemlerinin Geliştirilmesi ve Uygulamaları. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Karaman*.
- Kim , J.S. Quang, D. T., (2007). Calixarene-Derived Fluorescent Probes, *Chem. Rev.*,107, 3780-3799.

- Lakowicz J. R., (1999). Principles of fluorescence spectroscopy, 2nd Edition, New York Kluwer Academic/Plenum.
- Lakowicz, J.R., (2006). Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd ed.; Springer Science: New York, NY, USA.
- Lan, L., Niu, Q., Guo, Z., Liu, H., Li, T., (2017). Highly sensitive and fast responsive turn-on fluorescent sensor for selectively sensing Fe³⁺ and Hg²⁺ in aqueous media based on an oligothiophene derivative and its application in real water samples. *Sensors Actuators B. Chem.* 244, 500-508.
- Lee, S., Rao, B. A., Son, Y., (2014). Colorimetric and turn-on fluorescent determination of Hg²⁺ ions based on a rhodamine-pyridine derivative. *Sensors Actuators B. Chem.* 196, 388-397.
- Li, D., Sun, X., Huang, J., Wang, Q., Feng, Y., Chen, M., Meng, X., Zhu, M., Wang, X., (2016). A carbazole-based turn-on two-photon fluorescent probe for biological Cu²⁺ detection vis Cu²⁺-promoted hydrolysis, *Dyes and Pigments* 125 185-191.
- Li, J.J. (Ed.). (2011). Name reactions in heterocyclic chemistry II. New Jersey: John Wiley & Sons. Inc.
- Li, J.J. (2009). Name reactions: a collection of detailed mechanisms and synthetic applications (5. baskı). Switzerland, Springer International Publishing
- Ly N.H., Yoon J., Nguyen D.B., Cho K.H., Joo S.W., (2017). Luminescent properties of 4-aminobenzo-15-crown-5 after preferential binding of ferric ions in aqueous solutions. *Luminescence* 32 (4): 549-554.
- Mahapatra, A.K., Roy, J., Sahoo, P., Mukhopadhyay, S.K., Banik, A., Mandal, D., (2013). Carbazole phenylthiosemicarbazone-based ensemble of Hg²⁺ as selective fluorescence turn-on sensor toward cysteine in water, *Tetrahedron Letters* 54, 2946–2951.
- Miyawaki, A., (2011). Development of Probes for Cellular Functions Using Fluorescent Proteins and Fluorescence Resonance Energy Transfer, *Annual Review of Biochemistry* 80, 357-373. ws, 205, 3-40.
- Newman, R. H., Fosbrink, M. D., Zhang, J. (2011). Genetically Encodable Fluorescent Biosensors for Tracking Signaling Dynamics in Living Cells., *Chemical Reviews*, 111, 3614-3666.
- Oğuz Tümay, S. (2020). Floresans Özellik Gösteren Fosfazen Çekirdekli Bileşiklerin Sentezi ve Sensör Özelliklerinin İncelenmesi. *Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD.*Gebze
- Özboilat, G., Tuli, A. (2016). Ağır Metal Toksikitesinin İnsan Sağlığına Etkileri, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4): 502-521.
- Özdemir, A. (2021). Siyanür Algılayıcı Yeni π -Konjuge Floresans Sensörlerin Tasarımı ve Sentezi. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD*,Konya.
- Özgün, S., (2016). Bazı Karbazol Bileşiklerinin TCNE ve TNM ile Yük Transfer Kompleksleşmeleri *Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi*,Balıkesir.
- Petrov, R.R., Knight, L., Chen, S-R., Wager-Miller, J., McDaniel, S.W., Diaz, F., Barth, F., Pan, H-L., Mackie, K., Cavasotto, C.N., Diaz, P., (2013). Mastering

- tricyclic ring systems for desirable functional cannabinoid Activity, *European Journal of Medicinal Chemistry* 69, 881-907
- Powe, A. M., Das, S., Lowry, M., El-Zahab, B., Fakayode, S. O., Geng, M. L., Baker, G. A., Wang, L., McCarroll, M. E., Patonay, G., Li, M., Aljarrah, M., Neal, S., Warner, I. M., (2010). Molecular Fluorescence, Phosphorescence, and Chemiluminescence Spectrometry, *Analytical Chemistry*, 82, 4865-4894.
- Pramjit, S., Eiamprasert, U., Surawatanawong, P., Lertturongchai, P., Kiatisevi, S., (2015). Carbazole-bridged double D–A dye for efficient dye-sensitized solar cell, *Journal of Photochemistry and Photobiology A, Chemistry* 296 1–10.
- Qiong, L., Lirong, W., Danli, X., Guanghan, L., (2006). Determination of trace aluminum in foods by stripping voltammetry, *Food Chemistry*, 97, 176-180.
- Rendell, D., (1987). Fluorescence and Phosphorescence, ACOL, Thames Polytechnic, London.
- S. Bayindir, (2019). A simple rhodanine-based fluorescent sensor for mercury and copper: The recognition of Hg²⁺ in aqueous solution, and Hg²⁺/Cu²⁺ in organic solvent. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 372, 235-244 .
- Savran T., Karuk Elmas Ş. N., Aydin D., Arslan S., Arslan F. N., Yılmaz I. (2022). Design of multiple–target chemoprobe: "naked–eye" colorimetric recognition of Fe³⁺ and off–on fluorogenic detection for Hg²⁺ and its on–site applications, *Research on Chemical Intermediates (RINT)* (<https://doi.org/10.1007/s11164-021-04648-8>)
- Suban K. Sahoo, Darshna S, Anuradha M., Aman K, Rini T, Rajender K, Anil K., Heung-Jin Choi, Anupam B. (2016). Pyridoxal derived chemosensor for chromogenic sensing of Cu²⁺ and fluorogenic sensing of Fe³⁺ in semi-aqueous medium. *J. Lumin.* 172, 297.
- Şahin, Ö. (2011). Floresans Özelliğ Gösteren Kaliks[4]Aren Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya ABD, Konya.*
- Tuncay, Y., (2007). Kovada Gölü'nde Yasayan İstakozlarda (Astacus Leptodactylus Eschscholtz, 1823) Ağır Metal Birikiminin İncelenmesi *Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, , Isparta.*
- Valeur, B., (1994). Principles of Fluorescent Probe Design for Ion Recognition. In: Topics in Fluorescence Spectroscopy: Probe Design and Chemical Sensing. Eds: Lakowicz JR. Boston, MA: Springer US, p. 21-48.
- Valeur, B., (2001). Molecular Fluorescence Principles and Applications Molecular Fluorescence: Principles and Applications. *Wiley-VCH Verlag GmbH.*
- Valeur, B., Leray, I., (2000), Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition, *Coordination Chemistry Reviews*, 205, 3–40.
- Wainwright, M., (2009). Photosensitisers in Biomedicine, *John Wiley & Sons.*
- Weerasinghe, A. J., Abebe, F. A., Sinn, E., (2011). Rhodamine based turn-ON dual sensor for Fe³⁺ and Cu²⁺. *Tetrahedron Let*, 52, 5648-5651.
- Wu, C.S., Fang, S.W., Chen, Y., (2013). Solution-processable hole-transporting material containing fluorenyl core and triple-carbazolyl terminals: synthesis

and application to enhancement of electroluminescence, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 15, 15121-15127

- Yavuz, O., Sarıgül, N., (2016). Toprak ve Sucul Ortamlardaki Ağır Metal Kirliliği ve Ağır Metal Dirençli Mikroorganizmalar. *MAKÜ-FEBED*, 7(1): 44-51.
- Yin, J., Bing, Q., Wang, L., Wang, G., (2018). Ultrasensitive and highly selective detection of Cu²⁺ ions based on a new carbazole-Schiff, *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 189, 495–501.
- Yin, J., Ma, Y., Li, G., Peng, M., Lin, W., (2020). A versatile small-molecule fluorescence scaffold: Carbazole derivatives for bioimaging, *Coordination Chemistry Reviews*, 412, 213257.
- Yin, P., Niu, Q., Yang, Q., Lan, L., Li, T., (2019). A new naked-eye colorimetric and ratiometric fluorescent sensor for imaging Hg²⁺ in living cells. *Tetrahedron* 75, 130687.
- Zhang J. F., Zhou Y., Yoon J., Kim J. S. (2011). Recent progress in fluorescent and colorimetric chemosensors for detection of precious metal ions (silver, gold and platinum ions), *Chemical Society Reviews*, 40, 3416-3429.
- Zhou, Y., He, X., Chen, H., Wang, Y., Xiao, S., Zhang, N., Li, D., Zheng, K., (2017). An ESIPT/ICT modulation based ratiometric fluorescent probe for sensitive and selective sensing Hg²⁺. *Sensors Actuators B. Chem.* 247, 626-631.

