MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUMARİN ESASLI YENİ BİR HİPOKLORİT TAYİN YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

BURCU ALTAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Soner ÇUBUK

İSTANBUL, 2023

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUMARİN ESASLI YENİ BİR HİPOKLORİT TAYİN YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

BURCU ALTAŞ

520421001

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Analitik Kimya Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Soner ÇUBUK

İSTANBUL, 2023

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca beni bilgisi ile aydınlatan, tez çalışmam sırasında hiçbir sorumu yanıtsız bırakmayıp olumlu tavırları ile beni teşvik eden, ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Soner ÇUBUK'a,

Tez çalışmalarında kullanılmış olan kumarin türevi maddenin sentezi konusundan yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Mücahit ÖZDEMİR'e,

Lisans eğitimim sırasında her zaman bilgilerinden faydalandığım, manevi anlamda desteklerini her zaman hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Filiz KABAPINAR ve Prof. Dr. Yücel KABAPINAR'a,

Bu günlere gelmemde hem maddi hem manevi birçok fedakarlık yapan, beni bir an olsun yalnız bırakmayıp sürekli destekleyen, kendimi kötü hissettiğim anlarda bana moral vererek beni teşvik eden, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili aileme,

Tez çalışmam sırasında desteklerini sürekli hissettiğim, beni konuşmaları ile cesaretlendirerek çalışmam için teşvik eden değerli arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

ŞUBAT, 2023 **Burcu ALTAŞ**

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR I

İÇİNDEKİLER II

ÖZET V

ABSTRACT VI

SEMBOLLER VII

KISALTMALAR VIII

ŞEKİL LİSTESİ XI

TABLO LİSTESİ XII

BÖLÜM 1. GENEL BİLGİLER 1

1.1. HİPOKLORİT HAKKINDA GENEL BİLGİ..... 1

1.1.1. Hipoklorit ve Sulu Ortamda Oluşması..... 1

1.1.2. Hipokloritin Kullanım Alanları..... 3

1.1.3. Hipokloritin Faydaları ve Zararları..... 7

1.1.4. Hipoklorit Maruziyeti..... 11

1.1.5. Hipoklorit Analiz Yöntemleri..... 13

2.1. KUMARİN HAKKINDA GENEL BİLGİ..... 15

1.2.1. Kumarin ve Kullanım Alanları..... 15

1.2.2. Kumarin Sentez Yöntemleri..... 18

1.2.2.1. Pechmann Tepkimesi İle Kumarin Sentezi..... 18

1.2.2.2. Perkin Tepkimesi İle Kumarin Sentezi..... 18

1.2.2.3. Knoevenagel Tepkimesi İle Kumarin Sentezi..... 19

1.2.2.4. Reformatsky Tepkimesi İle Kumarin Sentezi……. 19

1.2.2.5. Wittig Tepkimesi İle Kumarin Sentezi……. 20

BÖLÜM 2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR…… 21

2.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER…… 21

2.2. KULLANILAN CİHAZLAR……. 22

2.3. DENEYSEL YÖNTEM……. 23

2.3.1. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Sentezi……... 23

2.3.2. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Karakterizasyonu..……. 24

2.3.2.1. FTIR Spektrumu……. 24

2.3.2.2. NMR Spektrumu……..…….. 24

2.3.3. Çözeltilerin Hazırlanması…….. 24

2.3.3.1. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması……... 24

2.3.3.2. Prob 1 ve Prob 2 Çözeltilerinin Hazırlanması…….. 24

2.3.3.3. Hipoklorit Çözeltilerinin Hazırlanması……..... 25

2.3.3.4. Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması İçin Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması……. 25

2.3.4. Analiz Parametrelerinin Belirlenmesi…….. 25

2.3.4.1. Spektral Karakterizasyon Çalışması……..... 25

2.3.4.2. Yöntem İçin Uygun pH Değerinin Belirlenmesi…….. 26

2.3.4.3. Fluoresans Şiddeti Üzerine Sürenin Etkisi……..... 26

2.3.4.4. Kalibrasyon Grafiği ve Tespit Sınırı……. 26

2.3.4.5. Sensörün Ömrü ve Tekrar Kullanılabilirliği Yabancı İyon Etkisinin İncelenmesi……... 26

2.3.4.6. Geri Kazanım ve Gerçek Örnek Çalışmaları…..... 27

BÖLÜM 3. SONUÇLAR…… 28

3.1. KUMARİN TÜREVLİ SENSÖRÜN SENTEZLENMESİ……. 28

3.1.1. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Sentezi…….…….. 28

3.1.2. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Karakterizasyonu…… 29

3.1.2.1. FTIR Spektrumu……. 29

3.1.2.2. NMR Spektrumu……. 30

3.2. SENSÖRÜN SPEKTRAL KARAKTERİZASYON ÇALIŞMASI…… 31

3.3. YÖNTEM İÇİN UYGUN pH DEĞERİNİN BELİRLENMESİ……... 33

3.4. FLUORESANS ŞİDDETİ ÜZERİNE SÜRENİN ETKİSİ……. 34

3.5. KALİBRASYON GRAFİĞİ VE TESPİT SINIRI……... 34

3.6. YABANCI İYON ETKİSİNİN İNCELENMESİ……..... 35

3.7. GERİ KAZANIM VE GERÇEK ÖRNEK ÇALIŞMALARI……..... 36

BÖLÜM 4. TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRME……. 38

KAYNAKLAR…… 40

ÖZGEÇMİŞ…… 48

ÖZET

KUMARİN ESASLI YENİ BİR HİPOKLORİT TAYİN YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

Hipoklorit hücre içinde bazı kimyasalların reaksiyonu sonucu elde edilen, canlı hücrelerde antibakteriyel aktivite sağlayan bir iyondur. Günlük yaşamımızda birçok alanda kullanılmaktadır. Ancak bu iyonun canlı vücudunda aşırı derecede varlığı yüksek toksisiteye sebep olabilmektedir. Bu nedenle çevre ve insan sağlığını olumsuz etkileyen hipokloritin tayin edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Yaptığımız çalışmada ClO^- iyonunu tayin edebilme amacıyla spektrofluorimetrik yöntem geliştirilmiştir. ClO^- iyonu tayininde kullanılmak üzere kumarin esaslı sensör hazırlanılmıştır. Kumarin esaslı sensör hazırlandıktan sonra, ClO^- iyonu tayini için en uygun koşullar belirlenmiştir. Sensör, pH:7,4 değerinde monosodyum fosfat / disodyum fosfat tampon çözeltisi içerisinde hazırlandıktan sonra λ_{uy}= 275 nm uyarma dalga boyuna karşılık gelen λ_{em}= 320 nm'deki emisyon dalga boyunun fluoresans şiddeti ölçülmüştür.

Bu analizi etkileyebilecek pH, reaksiyon süresi, yabancı iyon etkisi gibi değişkenler incelenmiş, bununla birlikte gerçek örnek ve geri kazanım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Gerçek örnek çalışmasını gerçekleştirebilmek amacıyla musluk suyu ve ClO^- iyonu içeren dezenfektan çözeltisi kullanılmıştır. Kalibrasyon aralığı $4{,}47.10^{-7}$-$2{,}22.10^{-5}$ mol/L olarak belirlenmiş, tespit sınırı ise $1{,}09.10^{-6}$ mol/L olarak ölçülmüştür. Geliştirdiğimiz yöntem ile ClO^- iyonunu yüksek seçicilik ve güvenilirlikle tayin edilebilmektedir.

ŞUBAT, 2023 **Burcu ALTAŞ**

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A NEW COUMARIN BASED HYPOCHLORITE DETERMINATION METHOD

Hypochlorite is an ion obtained as a result of the reaction of certain chemicals inside the cell, which provides antibacterial activity in living cells. It is used in many areas of our daily life. However, the excessive presence of this ion in the living body can cause high toxicity. Therefore, the appointment of hypochlorite, which negatively affects the environment and human health, is critical.

In our study, the spectrofluorimetric method was developed to determine the ClO^- ion. A coumarin-based sensor has been prepared for use in the determination of ClO^- ion. After the coumarin-based sensor was prepared, the optimal conditions for determining ClO^- ion were determined. The fluorescence intensity of the emission wavelength at λ_{em}= 320 nm, corresponding to the excitation wavelength λ_{ex}= 275 nm, was measured after the sensor was prepared in a monosodium phosphate/disodium phosphate buffer solution with a pH value of 7.4.

Variables such as pH, reaction time, and foreign ion effect that may affect this analysis were examined. However, actual sample and recovery studies were carried out. To carry out the real sample study, a disinfectant solution containing tap water and ClO^- ion was used. The calibration range was determined as $4.47.10^{-7}$-$2.22.10^{-5}$ mol/L, and the detection limit was measured as $1.09.10^{-6}$ mol/L. With our developed method, ClO^- ion can be determined with high selectivity and reliability.

FEBRUARY, 2023 **Burcu ALTAŞ**

SEMBOLLER

pH : Çözeltinin asitlik ve bazlık derecesini ifade eden ölçü birimi

pKa : Asitlik kuvveti

A : Absorbans

λ : Lamda

C : Konsantrasyon

F : Fluoresans Şiddeti

°C : Santigrat

KISALTMALAR

^{1}H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AES	: Atomik Emisyon Spektroskopisi
BODIPY	: Bordipirometen
$C_2H_3NaO_2$	: Sodyum Asetat
C_2H_5OH	: Etil Alkol
$C_4H_6O_3$	: Asetik Anhidrit
C_6H_4CHO-2-OH	: Salisilaldehit
$Ca(OCl)_2$	: Kalsiyum Hipoklorit
CH_3COOH	: Asetik Asit
CH_3COONa	: Sodyum Asetat
CH_3OH	: Metil Alkol
ClO^-	: Hipoklorit İyonu
ClO_2^-	: Klorit
CNCl	: Siyanojen Klorür
DCA	: Dikloroasetik Asit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ESIPT	: Uyarılmış Durum Molekül İçi Elektron Transferi
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi
FRET	: Fluoresans Rezonans Enerji Transferi
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GRAS	: Güvenli Olarak Kabul Edilen Madde
H_2O_2	: Hidrojen Peroksit

H_2SO_4 : Sülfirik Asit

HCl : Hidroklorik Asit

HClO : Hipokloröz Asit

HIV : İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü

ICP : İndüktif Eşleşmiş Plazma

IV : İntravenöz

İSKİ : İstanbul Su ve Kanalizasyon İdaresi

KCl : Potasyum Klorür

KI : Potasyum İyodür

LiOH : Lityum Hidroksit

MCA : Monokloroasetik Asit

MPO : Miyeloperoksidaz

MS : Kütle Spektroskopisi

Na_2HPO_4 : Disodyum Fosfat

$Na_2S_2O_3$: Sodyum Tiyosüfat

NaDCC : Sodyum Dikloroizosiyanürat

NaH_2PO_4 : Monosodyum Fosfat

NaOCl : Sodyum Hipoklorit

PET : Foto İndüklenmiş Elektron Transferi

PMT : Fotoçoğaltıcı Tüp

ppm : Milyonda Bir Kısım

PVC : Polivinil Klorür

QD : Yarı İletken Kuantum Noktaları

RNA : Ribonükleik Asit

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

TCA : Trikloroasetik Asit

THF : Tetrahidrofuran

THM : Trihalometan

TLC : İnce Tabaka Kromatografisi

UCP : Lantanit Katkılı Dönüşüm Fosforları

USEPA : Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

UV-Vis : Ultraviyole ve Görünür Işık

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

λ_{em} : Emisyon Dalgaboyu

λ_{uy} : Uyarma Dalgaboyu

ŞEKİL LİSTESİ

		SAYFA
Şekil 1.1.	NaDCC'nin suda iyonlaşma tepkimesi.	5
Şekil 1.2.	Kumarinin açık formülü.	15
Şekil 1.3.	Pechmann tepkimesi ile kumarin sentezi.	18
Şekil 1.4.	Perkin tepkimesi ile kumarin sentezi.	18
Şekil 1.5.	Knoevenagel tepkimesi ile kumarin sentezi.	19
Şekil 1.6.	Reformatsky tepkimesi ile kumarin sentezi.	20
Şekil 1.7.	Wittig tepkimesi ile kumarin sentezi.	20
Şekil 2.1.	Çalışmada kullanılan kumarinin kimyasal formülü.	21
Şekil 3.1.	3-(3,4-dihidroksifenil) kumarinin sentez aşaması.	29
Şekil 3.2.	3-(3,4-dihidroksifenil) kumarinin FTIR spektrumu.	30
Şekil 3.3.	3-(3,4-dihidroksifenil) kumarin bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu.	31
Şekil 3.4.	10^{-5} mol/L konsantrasyonundaki 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarinin $1,35x10^{-5}$ mol/L hipoklorit iyonu varlığında (kırmızı) ve yokluğunda (mavi) fluoresans spektrumu (λ_{uy}: 275 nm).	32
Şekil 3.5.	Farklı ph değerlerinin fluoresans şiddeti üzerindeki etkisi.	33
Şekil 3.6.	$1,35x10^{-5}$ mol/L ClO^{-} iyonu varlığında kumarin esaslı sensörün fluoresans şiddetinin süreye bağlı değişimi.	34
Şekil 3.7.	pH: 7,4'te elde edilen kalibrasyon grafiği (λ_{uy}: 275 nm, λ_{em}: 320 nm).	35

TABLO LİSTESİ

		SAYFA
Tablo 1.1.	Hipoklorit iyonunu tayin etme amacıyla literatürde var olan çalışmaların bir kısmı.	14
Tablo 3.1.	$1,35x10^{-5}$ mol/L ClO^- iyonu varlığında girişime sebep olabilecek yabancı iyonların kabul edilebilir üst limit değerleri.	36
Tablo 3.2.	Sensörün geri kazanım çalışmaları (n=9).	37
Tablo 3.3.	Sensörün gerçek örnek çalışmalarına ait sonuçlar ve bağıl hatalar.	37

BÖLÜM 1

GENEL BİLGİLER

1.1. HİPOKLORİT HAKKINDA GENEL BİLGİ

1.1.1. Hipoklorit ve Sulu Ortamda Oluşması

Hipoklorit, ClO^- formülü ile gösterilen bir kök iyondur. Molekül ağırlığı 51,45 g/mol olan hipoklorit, günlük yaşamımızda sıkça kullandığımız temizlik malzemelerinde 10^{-5}-10^{-2} mol/L konsantrasyon aralığında bulunmaktadır. Hipokloröz asidin (HClO) tuzudur ve +1 değerliğe sahip klor içermektedir (Chen ve ark., 2018).

Hipoklorit iyonu, canlı hücrelerde hidrojen peroksit (H_2O_2) ve klorür (Cl^-) iyonu arasındaki peroksidasyon reaksiyonu sonucu üretilmektedir.

$$H_2O_2 + Cl^- \rightarrow ClO^- + H_2O$$

Bu tepkime, miyeloperoksidaz (MPO) enzimi ile katalize edilmektedir (Hou ve ark., 2020; Ong ve ark., 2018).

MPO enzimi, MPO geni aracılığıyla kodlanan bir peroksidaz enzimidir. Miyeloperoksidaz, klorür iyonunu hipoklorit iyonuna dönüştürerek, vücut için antimikrobiyal özellik taşıyan asitler üretip bağışıklık sistemine yardımcı olmaktadır (Alhbou, 2020).

Hipoklorit iyonu aynı zamanda konjuge asidi olan, hipokloröz asit tarafından da elde edilebilmektedir. Hipokloröz asit, zayıf bir asittir (pKa = 7,53) ve sulu çözeltilerinde yaklaşık %50'si hipoklorit iyonuna dönüşebilmektedir (Zhu ve Wong, 2018).

Hipokloröz asit, klor ve suyun tepkimesi ile de elde edilebilmektedir. Oluşan hipokloröz asit suda iyonizasyona uğrayarak hipoklorit iyonunu oluşturmaktadır. Mikroorganizmalar üzerindeki yok edici etkisinden dolayı hipokloröz asit, aktif klor olarak da bilinmektedir (Külekçi, 2005).

$$Cl_2 + H_2O \rightleftarrows HOCl + HCl$$

$$HOCl \rightleftarrows H^+ + OCl^-$$

Bu reaksiyonlar tersinirdir ve pH ile birlikte değişkenlik gösterebilmektedir. pH: 3,5 ve pH: 5,5 arasında ortamdaki baskın tür HOCl iken, pH: 5,5 ve 9,5 arasında HOCl ve OCl^- ortamda birbirlerine yakın konsantrasyonlarda bulunmaktadır. pH: 8 ve üzerinde ise baskın tür ClO^-'dir. Hipokloröz asidin hipoklorit iyonu oluşturacak şekilde ayrışması pH: 6 koşullarında %97 iken, pH: 8 koşullarında ayrışma oranı %23'e düşebilmektedir (Çelik, 2015).

Hipoklorit içeren çözeltinin güneş ışığına maruz kalması durumunda hipoklorit, klorit (ClO_2^-) ve oksijen oluşturarak parçalanabilmektedir, bu nedenle ışık geçirmeyen kaplarda saklanmalı veya ışığın az olduğu ortamlarda korunmalıdır. Güneş ışığı altında birkaç saat kalan hipokloritin, etkisini tamamen yitirdiği kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, yüksek sıcaklıklar reaksiyonu hızlandıracağından hipoklorit ve türevlerinin soğuk yerlerde saklanmaları gerekmektedir (Külekçi, 2005).

Hipoklorit iyonu, farklı metal katyonlarıyla birleşerek hipoklorit tuzları oluşturabilmektedir. Bu tuzlara örnek olarak sodyum hipoklorit, lityum hipoklorit ve kalsiyum hipoklorit verilebilmektedir. Bu maddeler inorganik klorlar olarak da bilinmektedirler (Külekçi, 2005).

Sodyum hipoklorit, klor ve sodyum hidroksitten soğutularak elde edilebilmektedir. Burada oluşan sodyum hipoklorit ise suda iyonize olarak hipoklorit iyonunu oluşturmaktadır (Çelik, 2015).

$$Cl_2 + 2NaOH \rightarrow NaOCl + NaCl + H_2O$$

$$NaOCl + H_2O \rightarrow Na^+ + H_2O + OCl^-$$

Günlük yaşamımızda kullandığımız çamaşır sularında %5,25 konsantrasyonunda sodyum hipoklorit bulunmaktadır. Bu konsantrasyon, çözeltide 50000 ppm klora karşılık gelmektedir. Çözeltinin rengi açık sarı olup, keskin bir klor kokusuna sahiptir (Külekçi, 2005).

Sodyum hipoklorit asitlerle karıştırıldığında hızlı bir şekilde klor gazı salınımı gerçekleşmektedir ve ortaya çıkan klor gazına birkaç dakika boyunca maruz kalmak, ölüme neden olabilmektedir (Külekçi, 2005).

$NaOCl + HCl \rightarrow Cl_2 + H_2O + NaCl$

Sodyum hipokloritin amonyak türevi bileşiklerle karışımları patlayıcı etki gösterip, aseton ve formaldehit ile güçlü bir reaksiyon verebilmektedir. Aynı zamanda ağır metaller hipoklorit iyonu ve türevleri ile tepkime vereceğinden, bu maddeler metal kaplarda saklanmamalı aksi takdirde, metal kaplarda aşınmalara neden olabilmektedir (Külekçi, 2005).

1.1.2. Hipokloritin Kullanım Alanları

Hipoklorit ve türevleri günlük yaşamımızda kullandığımız birçok maddenin yapısında bulunmaktadır. Hipoklorit; dezenfeksiyon, ağartma, havuz sularının arıtılması, su şartlandırma ve siyanür arıtımı amacıyla kullanılabilmektedir. Bununla birlikte, endodonti, gıda sanayii, kağıt ve tekstil endüstrisinde de hipoklorit kullanımı oldukça yaygındır. Bu alanlar arasında hipoklorit ve türevlerinin en çok kullanıldığı bölüm ise, dezenfeksiyondur.

Sodyum hipoklorit günlük yaşamda sıkça kullanılan, çamaşır suyu olarak da bilinen, NaOCl kimyasal formülüne sahip bir maddedir. Sodyum hipoklorit ilk olarak, 1787 yılında Fransız kimyacı Louis Berthollet tarafından bulunmuştur. Sodyum hipokloritin mikroorganizmaları yok edici özelliği, ilk kez 1880 yılında Louis Pasteur tarafından ortaya konulmuştur. Mikroorganizmaların yok olmasını sağlayan ise, sodyum hipokloritin etken maddesi olan hipoklorit iyonudur. 1897 yılında çamaşır suyu Sears Roebuck & Co. Firması tarafından seri üretimi yapılıp, kataloglarda yer almaya başlamıştır. Bu sebeple 1897 yıllarından günümüze kadar sodyum hipoklorit, dezenfeksiyon amacıyla kullanılmaktadır (Ponzano, 2007; Lang, 2013).

Kalsiyum hipoklorit ise, $Ca(OCl)_2$ formülüne sahip kireç kaymağı olarak da bilinen, granül, toz veya tablet formlarında bulunan bir dezenfeksiyon maddesidir. Kalsiyum hipoklorit, %70-72 oranlarında klor içerebilmektedir. Kalsiyum hipokloritin sodyum hipoklorite göre raf ömrü daha uzundur ancak, kalsiyum hipoklorit sert sularda kireçlenmeye sebep olabilmektedir. Lityum hipoklorit (LiClO) ise çoğunlukla havuzları dezenfekte etmek amacıyla kullanılmaktadır (Çelik, 2015).

Dezenfeksiyon, çeşitli maddeler üzerindeki patojen mikroorganizmaların yok edilmesi işlemidir. Günlük yaşamımızda kullanılan dezenfeksiyon maddelerinin kolay elde edilebilir, düşük maliyetli ve toksik olmaması gerekmektedir. Hipoklorit ve türevleri kolay elde edilebilir ve düşük maliyetli olduğundan dezenfeksiyon amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Dezenfeksiyonda en çok kullanılan hipoklorit türevleri ise; sodyum hipoklorit, kalsiyum hipoklorit ve hipokloröz asittir. Dezenfeksiyon reaksiyonlarında mikroplar yok olurken, klor da klorür iyonuna dönüşmektedir (Ateş, 2020; Çelik, 2015).

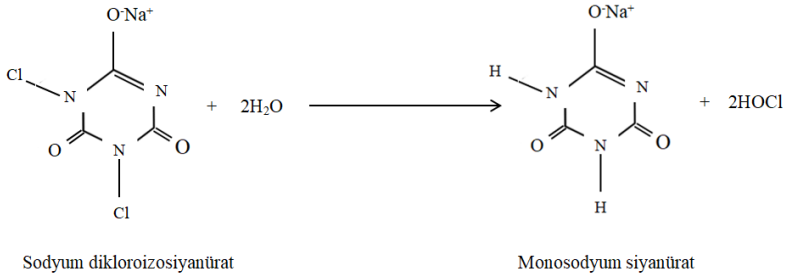
$HOCl$ + (canlı mikroorganizmalar) + H^+ + $2e^-$ → H_2O + Cl^- + (etkisiz mikroorganizmalar)

OCl^- + (canlı mikroorganizmalar) + H^+ + $2e^-$ → OH^- + Cl^- + (etkisiz mikroorganizmalar)

Yapılan çalışmalar hipokloröz asidin dezenfeksiyon hızının hipoklorit türevlerine göre daha yüksek olduğunu, bu sebeple hipokloröz asidin antimikrobiyal etkisinin hipoklorit türevlerine göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Bunun sebebi ise, hipokloröz asidin moleküler ağırlığının diğer türlere göre daha düşük olması ve buna bağlı olarak hücre duvarından kolaylıkla geçebilmesidir (Çelik, 2015; Gerişlioğlu, 2013).

Hipokloröz asidin göz bakterilerini %99 oranında azalttığı görülmüştür. Bu sebeple hipokloröz asit, göz enfeksiyonlarını giderme amacıyla kullanılabilmektedir. Ek olarak, hipokloröz asidin yaralı bölgelere uygulanması, bakterilerin o bölgelerde çoğalmasını önlemektedir (Ateş, 2020).

Dezenfeksiyon amacıyla sıkça kullanılan bir başka ürün ise, renksiz ve suda çözünür bir katı olan sodyum dikloroizosiyanürat (NaDCC)'tır. NaDCC, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından su dezenfeksiyonu için kullanılması onaylanan bir maddedir. NaDCC'nin suda çözünmesiyle ortamda hipokloröz asit oluşmaktadır (Gerişlioğlu, 2013).



Şekil 1.1. NaDCC'nin suda iyonlaşma tepkimesi (Gerişlioğlu, 2013).

NaDCC'nin kalsiyum hipoklorit ve sodyum hipokloritten farkı ise, kalsiyum hipoklorit ve sodyum hipoklorit suda çözününce bünyelerindeki bütün kloru HOCl formuna dönüştürürken, NaDCC molekülü, klorun %50'sini dönüştürüp, diğer kısmını kloroizosiyanürat formunda kendi bünyesinde bulundurmaktadır. Bu sebeple NaDCC'ın, diğer hipoklorit türevlerine göre toksisitesi daha azdır ve metaller üzerinde daha az aşındırıcı etkiye sahiptir (Gerişlioğlu, 2013).

Hipoklorit türevlerinin kullanıldığı başka bir alan olan tekstilde yükseltgen ve indirgen madde kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Hipoklorit ve türevleriyle yapılan ağartma işlemi ucuz, hızlı ve basit olduğundan sıklıkla tercih edilmektedir. Ağartma işleminin gücü, çözeltideki klor konsantrasyonuyla birlikte artmaktadır. Ağartma işleminde hipoklorit türevlerine ek olarak hidrojen peroksit ve ozon da kullanılabilmektedir. Hipoklorit türevleri, hidrojen peroksit ve ozon arasında hidrojen peroksitin daha sık kullanılmasının sebebi, hidrojen peroksitin diğer türlere göre daha çevre dostu oluşudur. Ancak yine de her biri çökmeye neden olarak suda katı parçacıklar oluşturabilmektedir. Bu sebeple, yapılan ağartma işleminden sonra çok iyi bir çalkalama yapılmalıdır. Ağartma işlemi sonucu, elyaf üzerinde kalabilen kloraminlerin, sodyum hidrosülfit ile yok edilmesi gerekmektedir (İnkaya ve ark., 2008; Polat, 1991; Arık ve ark. 2008).

Endodonti alanında ise sodyum hipoklorit sıklıkla kullanılmaktadır. Endodontide sodyum hipoklorit kullanımı ilk kez 1936 yılında Walker aracılığıyla gündeme gelmiştir. Bu amaçla kullanılan sodyum hipokloritin konsantrasyon aralığı %0,5-10 şeklindedir. Sodyum hipokloritin kullanım nedeni ise; kolay ulaşılabilir olması, maliyetinin düşük olması ve mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkisidir. Bu antibakteriyel etki o kadar güçlüdür ki, sodyum hipoklorit 1 dakikadan daha az sürede

mikroorganizmaları yok edebilmektedir. Sodyum hipoklorit antibakteriyel etkisini, bakterilerin sülfidril gruplarında oksidasyona yol açarak göstermektedir. Bu sistemde düşük pH'ların sodyum hipokloritin toksik özelliğini artırdığı, ideal pH aralığının 11-12 olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte sistemin etki mekanizması; kullanılan maddenin konsantrasyonu, dokuların maddeye maruz kalma süresi, ısı ve saklama koşulları faktörlerine de bağlıdır. Kullanılan sodyum hipokloritin konsantrasyonunun yüksek olması toksik etki göstereceğinden tercih edilmemektedir. Ancak sodyum hipoklorit konsantrasyonu düşükken mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etki süresinin uzadığı, yüksek konsantrasyonlarda ise bu sürenin kısaldığı da bilinmektedir. Buna ek olarak, hipoklorit türevlerinin hava ve güneş ışığından kaynaklı kolaylıkla bozunabilmeleri sistemin dezavantajlarındandır (Mutluay ve Mutluay, 2016).

Hipoklorit ve türevlerinin kullanıldığı bir başka alan olan kağıt endüstrisinde ise, elde edilen kağıt hamurlarına hipoklorit ile ağartma işlemi yapılmaktadır. Bu amaçla, %12 konsantrasyona sahip sodyum hipoklorit kullanılmaktadır (Gümüşkaya ve ark., 2003).

Gıda sanayiinde ise, hipokloröz asit gıdalarda oluşan patojenleri yok etme amacıyla kullanılmaktadır. Bu sistem; ortamın pH değeri, sıcaklık ve ışık seviyesinden bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir (Ateş, 2020).

Siyanür arıtımı amacıyla yine bir hipoklorit türevi olan, sodyum hipoklorit kullanılmaktadır. Sodyum hipoklorit yardımıyla atık sulardaki siyanür konsantrasyonları 0,1 mg/L'ye kadar indirilebilmektedir. Bu işlem gerçekleşirken ortamda çok zehirli olan siyanojen klorür (CNCl) gazı açığa çıkmaktadır. Bu gazın oluşumunu önlemek amacıyla pH değeri 10 üzerinde tutulmalıdır (Öztürk, 2018).

$$NaCN + Cl_2 \rightarrow CNCl + NaCl$$

Bu işlemde, ilk olarak atık su içindeki siyanür, siyanata dönüştürülür. Siyanatın toksisitesi siyanüre göre çok daha düşüktür. (Öztürk, 2018).

1.1.3. Hipokloritin Faydaları ve Zararları

Hipoklorit ve türevleri günlük yaşamımızdaki birçok alanda kullanılabilmektedir. Hipoklorit iyonunun maliyetinin düşük ve kolay uygulanabilir olması ekonomi için faydalı olmakta, aynı zamanda çoğu alandaki iş yükünü de azaltmaktadır. Ek olarak hipoklorit iyonunun canlı vücudu için oldukça önemli bir görevi vardır.

Hücre içindeki serbest radikaller, dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron taşıyan, yüksek enerjili ve kararsız maddelerdir. Bu maddeler, yüksek enerjili ve kararsız olduklarından hızlı bir şekilde reaksiyon verebilmektedir. Kaynağı oksijen olan serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılır. Reaktif oksijen türleri, canlı hücrelerde metabolizma sırasında üretilmektedir. Bu radikaller, hücreler arası sinyal iletimi, hücre içi redoks dengesi ve çeşitli patojenlere karşı savunma mekanizmasında fizyolojik ve patolojik olarak aktif bir rol oynamaktadır. Reaktif oksijen türlerine örnek olarak; OH^-, O_2^-, H_2O_2, NO^-, HOCl, ROO^- ve HNO_2 verilebilmektedir. Mitokondrinin de önemli bir ROS kaynağı olduğu bilinmektedir (Du ve ark., 2022; Chen ve ark., 2019; Yan ve ark., 2018; Li ve ark., 2021; Wu ve ark., 2019; Kurtdede ve ark., 2018; Karabulut ve Gülay, 2016; Ma ve ark., 2020).

Organizmalarda çeşitli fizyolojik olaylarda önemli rol oynayan bir reaktif oksijen türü olan hipoklorit iyonu, canlı vücudu için normal konsantrasyonlardayken patojenleri yok ederek hücre yaşam döngüsüne katkı sağlamakta ve bağışıklık sistemi için önemli bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte, hücre içindeki redoks dengesini koruma amacıyla bazı proteinlerle tepkime verebilmekte ve hücrelerin nöronal yaşlanmasını önleyebilmektedir (Hou ve ark., 2020; Ong ve ark., 2018; Du ve ark., 2022; Chen ve ark., 2019).

Hipokloröz asidin bağışıklık sistemindeki patojenleri yok ederek antimikrobiyal ajan olarak görev alması, çok güçlü bir oksitleyici reaktif olmasından kaynaklanmaktadır. Oksitleyici reaktif, yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerinde yükseltgen özellik gösteren maddelere verilen bir isimdir. Hipokloritin oksitleyici reaktif olarak tanımlanmasının sebebi, redoks tepkimelerinde elektron alarak indirgenmesinden kaynaklanmaktadır (Chen ve ark., 2019; Yang ve ark., 2020; Wu ve ark., 2019; Zhu ve Wong, 2018).

Vücudumuzda kendiliğinden oluşan bu hipokloröz asit, toksik etki göstermeden yara iyileştirici olarak görev almaktadır. Yara iyileştirici etki, düşük hipoklorit konsantrasyonlarında bile aksiyon gösterebilmektedir (Şahin, 2021). Bununla birlikte, sodyum hipoklorit de iyi bir antimikrobiyal etki gösterebilmektedir. Bunun sebebi ise, sodyum hipokloritin hücre proteinlerini hidrolize edebilmesi ve hipoklorit oluşturabilmesidir (Orguneser, 1998).

Sadece insanlarda değil, kedi ve köpeklerde de yara iyileşme sürecinde hipokloröz asit kullanılabilmektedir. Hipokloröz asidin oluşturduğu antimikrobiyal etki, yaranın iyileşme sürecini etkilemeden biyofilm oluşumunu önlemektedir. Bu süreç içinde kullanımının kolay olması, maliyetinin düşük olması ve alerjik etki göstermemesi, hipokloröz asidin tercih edilme nedenleri arasındadır (Havabilen, 2022).

Alkalen hipokloritler ise, diş protezlerinin yüzeyinde bulunan, dişlerde taş oluşumuna sebep olan organik maddelerin etkisiz hale getirilmesine yardımcı olurlar. Hipoklorit ve türevleri oluşmuş diş taşlarına etki edemezken, buna sebep olan organik maddeleri ortamdan uzaklaştırarak diş taşı oluşumunu önlemektedirler (Sarı, 2022).

Hipoklorit ve türevlerinin faydaları olduğu kadar zararları da bulunmaktadır. Canlı vücudunda normal konsantrasyonlardaki hipoklorit bağışıklık sistemine yardımcı olurken, bu konsantrasyonların yükselmesi yıkıcı sonuçlar doğurabilmektedir. Hipoklorit türevleri günümüzde çoğu alanda kullanıldığından dolayı, bu maddelere yüksek konsantrasyonlarda maruz kalmak olasıdır. Günlük yaşamımızda besin maddeleri ve suların kirliliği, stres ve beslenme bozuklukları reaktif oksijen türlerinin vücuttaki konsantrasyonlarının artmasına sebep olabilmektedir (Yan ve ark., 2018; Li ve ark., 2021; Wu ve ark., 2019; Kurtdede ve ark., 2018). Oksidatif stres olarak da bilinen, reaktif oksijen türleri ve oksidatif sistem arasındaki dengesizlik, canlı vücudundaki redoks sistemini olumsuz etkilemektedir. Hücre içinde reaktif oksijen türlerinin aşırı birikimi, hücrenin genetiğini değiştirebilmektedir (Du ve ark., 2022; Chen ve ark., 2018; Karabulut ve Gülay, 2016). Konsantrasyonu artan reaktif oksijen türlerinden hipokloritin, hidrojen peroksit ve süperoksit radikallerinden 100 ile 1000 kat daha toksik olduğu bilinmektedir (Özcan ve ark., 2011).

Normal vücut dokularında hipoklorit konsantrasyonu 5-25 μmol/L aralığında değişebilmektedir. Ancak patolojik koşullarda bu konsantrasyon 100 μmol/L'den daha yüksek seviyeleri çıkabilmektedir (Li ve ark., 2018). Vücut içinde hipoklorit türevlerinin konsantrasyonlarının yükselmesi, hipokloritin lipitler, RNA, DNA ve proteinlerle reaksiyona girerek dokuları tahrip etmesine sebep olmaktadır. Böylelikle hücre içindeki birçok proteinin aktivitesi durabilmekte, hücre zarının işlevi bozulabilmektedir (Zhu ve ark., 2020; Karabulut ve Gülay, 2016; Özcan ve ark., 2011).

Dünya genelinde yılda yaklaşık kırk milyon insanın kanser ve kadiyovasküler rahatsızlıklardan dolayı hayatlarını kaybettikleri bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar bu ölümlerin, anormal konsantrasyonlarda hipoklorit birikiminden kaynaklandığını göstermiştir (Chen ve ark., 2018). Yüksek konsantrasyonlarda hipoklorit iyonuna maruz kalmak göz ve burun tahrişlerine, mide rahatsızlıklarına, akut nefrotoksisite, kardiyovasküler rahatsızlıklar, osteoartirit, pulmoner lezyon, akciğer hasarı, nefropati, nöron dejenerasyonu, artrit, Alzheimer, Parkinson ve kansere yol açabilmektedir (Long ve ark., 2013; Hou ve ark., 2020; Jin ve ark., 2019; Du ve ark., 2022; Cheng ve ark., 2017; Shangguan ve ark., 2019). Hücre içinde yüksek hipoklorit konsantrasyonu, lipoproteinleri oksitleyerek ateroskleroz hastalığının ilerlemesine sebep olmaktadır. Tip 2 diyabet hastalığına sahip kişilerde ise hipokloritin yüksek konsantrasyonu, klorlama yolu ile ciddi hücre ve doku zedelenmelerine neden olmaktadır (Li ve ark., 2018).

Buna ek olarak, hipoklorit iyonunun sebep olduğu serbest klorür iyonu kalıntıları, dezenfeksiyon işlemi sırasında bazı yan ürünler oluşturabilmektedir. Bu yan ürünlere örnek olarak nitrozaminler, haloasetik asitler ve trihalometan (THM) verilebilmektedir (Has, 2019).

Nitrozaminler, bünyesindeki nitrat grubundan dolayı akut toksisiteye neden olabilmektedir. Düşük dozlarda nitrozamin alımı karın ağrısı, idrarda kan ve halsizliğe sebep olabilmekte, yüksek dozlarda alımı ise ölümle sonuçlanabilmektedir. Nitrozaminlerin bu kadar toksik etki göstermelerinin sebebi, bünyelerindeki nitrat grubunun nitrite indirgenmesiyle birlikte, nitritin hemoglobinle tepkimeye girmesi ve oksijen taşıyamayan methemoglobin oluşturmasıdır (Ozbay ve ark., 2019).

Haloasetik asitler ise, doğal organik maddeler ve halojenler ile oluşmaktadır. en yaygın haloasetik asitler ise; monokloroasetik asit (MCA), dikloro asetikasit (DCA) ve trikloroasetik asitlerdir (TCA). Haloasetik asitler, polar ve suda çözünebilir maddelerdir. Haloasetik asitler kanserojen etki gösterebilmektedir (Yiğit, 2008).

Trihalometanlar, metandaki hidrojen atomlarının yerine bir halojen bağlanması ile elde edilen bileşiklerdir. En yaygın türleri ise; kloroform (triklorometan), bromoform (tribromometan), diklorobromometan ve dibromoklorometandır. Sularda trihalometan bulunması insan sağlığı için büyük risk oluşturabilmekte ve kansere sebep olabilmektedir. USEPA tarafından kanser yapma riski taşıyan maddeler listesinde trihalometanların birkaç türevi bulunmaktadır. Araştırmalar trihalometanların üreme ve gelişme bozukluklarına, böbrek ve sinir sistemi tahriplerine de neden olduğunu göstermektedir (Demirbaş, 2011).

Sodyum hipokloritin metal yüzeylerde aşınmalara sebep olduğu bilinmektedir. Canlılar üzerindeki etkileri oldukça büyük olan sodyum hipoklorit, akciğer hücreleri üzerinde toksik etki göstererek deforme olmalarına neden olabilmektedir. Sodyum hipoklorit konsantrasyonu arttıkça hücre ölümlerinde artış olduğu veya hücre büyümesinin durduğu görülmüştür. Bu toksik etkiler, antioksidan kullanımıyla birlikte azaltılabilmektedir (Sezigen ve Sarper, 2019).

Endodontide sodyum hipoklorit kullanımı oldukça yaygındır. Sodyum hipokloritin diş çürüklerini temizlemede oldukça etkili olduğu görülmüştür. Ancak sodyum hipoklorit diş çürüklerini temizlerken, aynı zamanda sağlıklı diş dokusuna da zarar verebilmektedir. Buna ek olarak, sodyum hipokloritin alerjik reaksiyonlara neden olması, toksisitesi ve raf ömrünün kısa olması endodonti alanında yeni madde arayışına neden olmaktadır. Sodyum hipokloritin yanlışlıkla kana karışması durumunda, sinir hücreleri deforme olmakta, ödem, nefes darlığı ve hipotansiyon gibi belirtiler de görülebilmektedir (Alim ve ark., 2019).

Hoy, 1981 yılında kanına sodyum hipoklorit karışan bir hastanın komaya girdiğini, sodyum hipokloriti uzaklaştırabilmek amacıyla hastaya tiyosülfat verildiğini bildirmiştir. Froner ve arkadaşları ise, sodyum hipoklorite maruz kalan bir hastasının nefesinde klor kokusu olduğunu bildirmişlerdir. Kaufman ve Keila ise yaptıkları

çalışmada, sodyum hipoklorite maruz kalan bir hastanın derisinde döküntüler olduğunu bildirmişlerdir (Hoy, 1981; Froner ve ark., 1987; Kaufman ve Keila, 1989).

Buna ek olarak hipokloritin dezenfeksiyon amacıyla yaygın kullanımı, su ve toprağı kirletip doğaya ve canlılara zarar verebilmektedir. Havuzların yüksek konsantrasyonlardaki kalsiyum hipoklorit ve lityum hipoklorit ile dezenfekte edilmesi baş ağrısı ve mide bulantısına sebep olabilmektedir (Hsu ve ark., 2011).

Hipokloritin bu yıkıcı etkileri sebebiyle in vivo ve in vitro olarak tayin edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu sebeple Dünya Sağlık Örgütü hipokloritin gözlemlenebilmesi için çeşitli kılavuzlar geliştirmiştir (Zhu ve Wong, 2018). Ancak WHO tarafından hipoklorite dair bir limit değer belirlenmemiştir.

Hipoklorit iyonunun, klorür iyonu oluşturabildiği bilinmektedir. Kullanım sularında klorür iyonu için limit değer, Türk Standartları (TS) ve WHO tarafından 250 mg/L olarak belirlenmiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) ise, bazı maddelerin belirli aralıklarla kullanıldığında zararsız olduğunu kabul etmiştir. Bu maddelere, güvenli olarak kabul edilen madde (GRAS) denilmektedir. FDA'ya göre sodyum hipoklorit GRAS madde listesinde yer almamaktadır (Vardar, 2009; İSKİ, 2010).

1.1.4. Hipoklorit Maruziyeti

Kimyasal maddeler bir ortama verildiğinde hava, toprak, su ve deri ile canlı vücuduna salınabilmektedirler. Özellikle su kaynaklarında bulunan kirleticiler, kolaylıkla canlı vücuduna girebilmektedir. Canlı vücuduna giren kimyasalların bir kısmı zararsız hale getirilerek vücuttan atılırken, bir kısmı da doğrudan kanser yapıcı etki gösterebilmektedir. Kimyasalların canlı vücuduna girmemesi için deri, akciğer ve solunum sistemi, koruyucu olarak görev yapmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Hipoklorit türevlerinin yutulması, en sık görülen maruziyet türüdür. Sodyum hipokloritin yutulması halinde; kusma, ishal ve karın ağrısı gibi semptomlar görülebilmektedir. Harley ve Collins yaptıkları çalışmada, çamaşır suyu içen çocuklarda oral yanıklar oluştuğunu bildirmişlerdir (Slaughter ve ark., 2019; Harley ve Collins, 1997).

Hipoklorit ve türevlerine maruz kalma yollarından bir diğeri, dermal (deri yoluyla) maruziyettir. Dermal maruziyette, hipoklorit türevleri derinin stratum korneum tabakasından emilerek, canlı epidermise ulaşmaktadır. Canlı epidermise ulaşan hipoklorit türevleri, damarlara geçerek dolaşım sistemine katılmaktadır. Uzun süre boyunca düşük konsantrasyonlu hipoklorite maruz kalmak cilt yüzeyinde tahrişe, yüksek konsantrasyonlu hipoklorit çözeltileri ise cilt yanıklarına sebep olabilmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997; Slaughter ve ark., 2019).

Bir diğer maruz kalma yolu ise, hipoklorit ve türevlerinin solunmasıdır. Solunum sistemi, burundan başlayarak alveollere kadar büyük çaplı parçacıkları süzmektedir. Ancak 17-20 μm çaplı parçacıklar, süzülemeyecek kadar küçüktür. Hipoklorit buharının kısa süreli solunması; bulantı, öksürük, gözlerde tahriş, baş dönmesi ve baş ağrısına sebep olabilmektedir. Ancak bu ağartıcılara uzun süre maruz kalındığında astım benzeri semptomlar görülebilmektedir. Buna ek olarak, havuz sularında kullanılan kalsiyum hipoklorit veya lityum hipoklorit türevlerinin kloramin gazı açığa çıkarması ve açığa çıkan bu gazın solunması da canlılar için oldukça tehlikelidir. Kloramin gazının solunması halinde; boğaz ve göğüs ağrısı, öksürük, nefes darlığı (dispne) gibi belirtiler görülebilmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997; Slaughter ve ark., 2019).

Sodyum hipokloritin endodontide sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir. Nadir de olsa, diş tedavisi sırasında, hipokloritin hastanın kanına sızdığı bazı vakalar mevcuttur. Bu vakalarda hastaların şiddetli kanama ve şişlik yaşadıkları görülmüştür.

Hipokloritin göz ile teması sonucu, kornea yaralanmaları görülmektedir. Bu yaralanmalar; yanma, yırtılma ve ağrı şeklinde kendini gösterebilmektedir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda hipoklorite maruz kalmak, daha ciddi göz tahrişleri meydana getirebilmektedir (Slaughter ve ark., 2019).

İntravenöz (IV) maruziyet, kullanılan maddenin doğrudan damar içine verilmesidir. Bu tür vakalar, kişinin kendine zarar verme isteği ile ortaya çıkmaktadır. Böyle bir durumda; nefesin çamaşır suyu kokması, sol tarafta oluşan göğüs ağrısı, idrarın siyah renkte olması gibi belirtiler görülebilmektedir (Slaughter ve ark., 2019).

Yukarıda açıklanan sebeplerden dolayı, hipoklorit türevleriyle çalışılırken dikkatli olmak gerekmektedir. Çalışırken alınabilecek önlemler; klor gazından korunmak için

kanisterli maske kullanımı, lastik veya PVC eldiven takılması, gözlük kullanımı, lastik kaplı elbise veya önlük kullanımı şeklindedir.

1.1.5. Hipoklorit Tayin Yöntemleri

Hipoklorit ve türevlerinin canlı vücuduna olan zararlarından dolayı, bu iyonun tayin edilmesi büyük önem taşımaktadır. Hipoklorit iyonunu tayin etmek amacıyla literatürde pek çok yöntem mevcuttur. Bunlardan bazıları; Atomik Absorpsiyon / Emisyon Spektroskopisi (AAS/AES), İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP), Kütle Spektrometresi (MS), Foto İndüklenmiş Elektron Transferi (PET), Fluoresans Rezonans Enerji Transferi (FRET), Uyarılmış Durum Molekül İçi Proton Transferi (ESIPT) gibi analitik yöntemlerdir (Tang ve ark., 2019; Starzak ve ark., 2019). Ancak bu yöntemlerin tayin süresinin zaman alması, çalışma sistemlerinin karmaşık olması, maliyetlerinin yüksek olması sebepleriyle kullanım oranları azalmıştır (Wang ve ark., 2018; Yang ve ark., 2021).

Hipokloritin genellikle düşük konsantrasyonlarda bulunması ve karmaşık doğası sebebiyle bu iyonun tayinini yüksek seçicilikle yapacak bir yönteme ihtiyaç duyulmaktadır. Son birkaç yılda temeli organik moleküllere dayanan fluoresans problar, canlı hücrelerde iyonları tespit edebilmek için sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Bu küçük moleküller, hassasiyetlerinin ve seçiciliklerinin yüksek olması, düşük tespit sınırı, tepki süresinin hızlı olması sebepleriyle oldukça ilgi görmektedir (Ong ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2014; Zhu ve ark., 2018). Çalışmalarda kullanılacak olan fluoresans probların düşük maliyetli, çevre dostu ve kullanımının basit olması da önem taşımaktadır (Shangguan ve ark., 2019).

Literatürde son zamanlarda hipoklorit iyonunu belirlemek amacıyla selenid, oksim, p-metoksifenol, dibenzoil hidrazid, siyanin, fluoressein, rodamin, BODIPY, anilin, o-fenilendiamin, tiyosemikarbazon bileşiklerinin kullanıldığı fluoresans problar mevcuttur (Jin ve ark., 2019; Tang ve ark., 2019; Cheng ve ark., 2017). Ancak bu bileşiklerin cevap süresinin uzun olması, maliyetlerinin yüksek olması, sentezlerinin karmaşık olması, suda zayıf çözünmeleri, fluoresans kuantum verimlerinin düşük olması, yalnızca belirli pH aralığında çalışmaları sebepleriyle kullanım oranları düşüktür (Zhao ve ark., 2017). Bu gibi sorunlara çözüm getirebilmek amacıyla lantanit katkılı dönüşüm

fosforları (UCP), yarı iletken kuantum noktaları (QD) başta olmak üzere anorganik malzemeler kullanılarak geliştirilen hipoklorit tayin yöntemleri de bulunmaktadır (Ma ve ark., 2017).

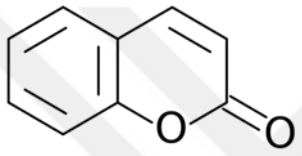
Tablo 1.1. Hipoklorit iyonunu tayin etme amacıyla literatürde var olan çalışmaların bir kısmı.

Yöntem	Kullanılan Reaktif	LOD	pH	Referans
Spektrofluorimetrik	7-hidroksi-4-metil kumarin	24,62 nmol/L	7,4	Tang ve ark., 2019
Spektrofluorimetrik	8-formil-7-hidroksi-4-metil kumarin	5,7 nmol/L	7,4	Shangguan ve ark., 2019
Spektrofluorimetrik	Kumarin barbitürat türevi	73 nmol/L	3,0-11,0	Xie ve ark., 2019
Spektrofluorimetrik	8-formil-7-hidroksi-4-metil kumarin	9,6 nmol/L	7,4	Yan ve ark., 2018
Spektrofluorimetrik	7-hidroksi-4-metil kumarin	96 nmol/L	7,4	Du ve ark., 2022
Spektrofluorimetrik	Dietilamino kumarin	32 nmol/L	7,4	Yang ve ark., 2021
Spektrofluorimetrik	Benzotiazinle kaynaşmış kumarin türevi	6,82 nmol/L	7,4	Hou ve ark., 2021
Spektrofluorimetrik	8-formil-7-hidroksi-4-metil kumarin	2,4 nmol/L	7,2	Jin ve ark., 2019
Spektrofluorimetrik	Tiyokumarin	170 nmol/L	7,4	Nguyen ve ark. 2020
Spektrofluorimetrik	Kumarin amid-piren türevi	8,7 nmol/L	7,4	Li ve ark., 2021
Spektrofluorimetrik	6-karboksi kumarin tiyosemikarbazid	59 nmol/L	7,4	Wang ve ark., 2018
Spektrofluorimetrik	3-asetil kumarin	51 nmol/L	7,2	Wang ve ark., 2019
Bu Çalışma	3-(3,4-dihidroksifenil) kumarin	1090 nmol/L	7,4	Altaş ve Çubuk, 2023

1.2. KUMARİN HAKKINDA GENEL BİLGİ

1.2.1. Kumarin ve Kullanım Alanları

Kumarin, 2H-kromen-2-on veya 1-benzopiran-2-on olarak adlandırılan, genel formülü $C_9H_6O_2$ olan organik bir bileşiktir. Moleküler ağırlığı 146,14 g/mol olan kumarin birçok bitkinin yapısında bulunmaktadır. Bu bitkilere örnek olarak tonka fasulyesi, yeşil çay, yaban mersini ve hindiba verilebilmektedir. Bununla birlikte bazı uçucu yağların yapısına katılan kumarin, tarçın kabuğu ve lavanta yağında yüksek seviyelerde bulunmaktadır. İlk olarak 1822 yılında A. Vogel tarafından izole edilip, ilk kez 1868 yılında Perkin tarafından sentezlenmiştir (Mustafa ve ark., 2020).



Şekil 1.2. Kumarinin açık formülü (Egan ve ark., 1990).

Kumarinler genellikle renksizdir ancak bazı türleri, renkli ve yoğun fluoresans özelliği taşımaktadır. Kumarin tipleri dört ana başlık altında toplanmaktadır. Bunlar; basit kumarinler, furanokumarinler, piranokumarinler ve pironla ikame edilmiş kumarinlerdir. Kumarinin ana yapısına hidroksil, alkoksi veya alkil gruplarının bağlanmasıyla basit kumarinler oluşmaktadır. Furanokumarinler, ana kumarine bağlı beş üyeli bir furan halkasından oluşmaktadır. Piranokumarinler, altı üyeli halka içeren kumarin türevleridir ve piron halkasının, kumarinin benzen halkasıyla kondenzasyonu sonucu oluşmaktadır. Piron halkasına ikame edilmiş kumarinlerde ise, 4- hidroksi kumarin grubu bulundurmaktadır (Bayramoğlu, 2019; Jain ve Joshi, 2012).

Karakteristik bir kokuya sahip olan kumarin, renksiz kristal şeklinde bulunmaktadır. Kumarin ve türevleri suda çözünmezken; etanol, kloroform ve yağlarda kolaylıkla çözünebilmektedir (Egan ve ark., 1990; Jain ve Joshi, 2012). Kumarinler UV spektrofotometresinde 270 ve 310 nm'de absorpsiyon maksimumuna sahiptirler (Şener ve Mutlugil, 1987).

1950 yıllarında kumarin türevlerinin hayvanlar üzerinde yapılan çalışmaları sonucu, hepatotoksin bir madde olduğu görülmüş, bu sebeple kanserojen olarak sınıflandırılmış ve kullanımı Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından yasaklanmıştır. Kumarinin karaciğere olan bu etkileri, ilk olarak 1954 yılında ABD'de yasaklanmasına neden olmuştur. Buna ek olarak, kumarinin uzun süreli kullanımlarda tümör oluşturduğu bilindiğinden, 1988'de Avrupa Birliği (AB), özel gıdalar hariç (sakız ve alkollü içecekler), genel gıdalar için 2 mg/kg'lık bir kumarin limiti belirlemiştir (Egan ve ark., 1990; Abraham ve ark., 2010). Alkollü içeceklerde limit değer 10 mg/kg iken, sakızlarda ise 50 mg/kg olarak belirlenmiştir. Kumarin türevlerinin oral ve dermal kullanımında, hem insan hem de hayvanlarda yüksek oranlarda emildiği ve hızla tüm vücuda dağıldığı görülmüştür. (Lake, 1999).

Kumarin türevlerinin keskin kokuları sebebiyle parfüm, boya, kozmetik ve gıda alanlarında sıkça kullanılmaktadır. Bu alanlardan biri olan parfüm sanayiinde, 1868 yıllarından günümüze dek kumarinden yararlanılmaktadır. Bunun sebebi, kumarin türevlerinin parfümlerin yapısında bulunan esansların kokularının değişmesini önlemesidir. Buna ek olarak kumarinden, hint yağı ve iyodoform gibi rahatsız edici kokuya sahip maddelerin kokularını bastırmak, kauçuk ve plastik maddelerin kokularını gidermek için de yararlanılmaktadır. Aynı zamanda, kumarin türevleri koku verme amacıyla tütünlerde ve böcek ilaçlarında da kullanılabilmektedir (Bayramoğlu, 2019; Lake, 1999).

Kumarinin doğal ve sentetik olarak pek çok türevi bulunmaktadır. Bu türevler arasında 3,4-dihidroksi kumarin gıda sanayiinde lezzet arttırıcı olarak, 7-hidroksi kumarin ise fluoresans parlatıcı, optik parlaklık verici ajan ve lazer boya maddesi olarak kullanılabilmektedir (Egan ve ark., 1990).

Tek başına kumarin antibakteriyel etkiye sahip değilken, bazı kumarin türevleri makrofajlar üzerinde uyarıcı etki göstererek canlı vücudunda bağışıklık sistemine yardımcı olabilmektedir. Bu antibakteriyel etki sayesinde bazı kumarin türevleri kronik enfeksiyonlar, bağışıklık sistemi bozuklukları, meme ve prostat kanseri tedavilerinde ve kanda pıhtı oluşumunu engelleme amaçlarıyla kullanılabilmektedir. Bu sebeple 1970'lerden beri kumarin türevlerinden dokulardaki ödemi yok etme amacıyla yararlanılmaktadır (Egan ve ark., 1990; Abraham ve ark., 2010).

Kumarin türevlerinin antimikrobiyal etkisi ile influenza virüsleri, HIV, Enterovirus gibi virüslere karşı etkili olduğu görülmüştür. 7-hidroksikumarin insanlarda tümör oluşumunu önleyebilmektedir. Aynı zamanda kumarinin, radyoterapi gören hastalarda yan etkileri gidermek için de kullanılabildiği bildirilmiştir. Ancak bu amaçla kullanılan 6-hidroksi kumarin gibi bazı kumarin türevlerinin fotoalerjik etki gösterdiği görülmüştür. Bazı hastalarda ise, tedavi sırasında kumarin kullanımı depresyona neden olmuştur (Egan ve ark., 1990; Abraham ve ark., 2010; Jain ve Joshi 2012; Mishra ve ark., 2020).

Furanokumarinler ise, dermal olarak kullanıldığında pigment oluşumunu arttırmaktadır. Bu sebeple vitiligo hastalığı ve güneş kremlerinde furanokumarinlerden yararlanılmaktadır (Bayramoğlu, 2019).

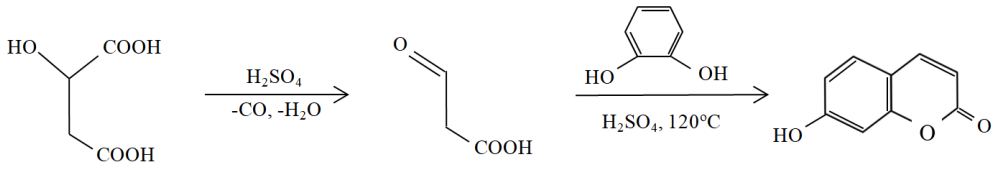
Kumarin türevleri, çeşitli kimyasal türlerin tayin edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Görünür bölgede güçlü bir fluoresansa sahip olan kumarin türevlerinin fotofiziksel özellikleri, yapıda bağlı olan gruplara ve çözücü ortamına göre değişkenlik gösterebilmektedir. Kumarin türevleri, çözelti dinamiği çalışmaları için iyi bir prob özelliği taşımaktadır (Taşkıran, 2010). Buna ek olarak, Stokes kaymaları, uyarma ve emisyon spektrumlarının çakışmasını önlemektedir. Yüksek ışık stabilitesi, düşük moleküler ağırlığı, maliyetinin düşük olması, yüksek hücresel geçirgenliği, yüksek fluoresans kuantum verimi, modifikasyon kolaylığı, toksik olmaması, kolay hazırlanması sebepleriyle hipoklorit iyonunun tespit edilmesi için iyi bir araçtır (Jin ve ark., 2019; Tang ve ark., 2019; Yan ve ark., 2018; Cheng ve ark., 2017).

1.2.2. Kumarin Sentez Yöntemleri

Kumarin türevleri; Pechmann, Perkin, Knoevenagel, Reformatsky ve Wittig olarak adlandırılan beş farklı yöntemle sentezlenebilmektedir. Bunlar arasında en sık kullanılan yöntemler ise, Perkin, Pechmann ve Knovenagel tepkimeleridir.

1.2.2.1. Pechmann Tepkimesi ile Kumarin Sentezi

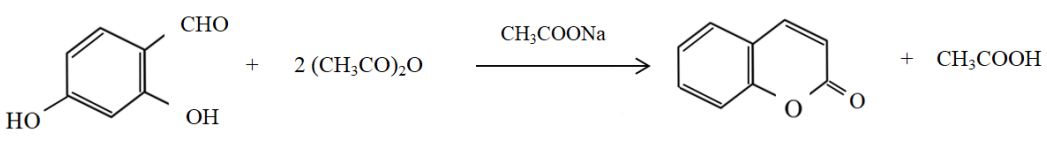
Bu yöntem, 1883'te Alman kimyager Hans von Pechmann tarafından keşfedilmiştir. Tepkime genellikle sülfat asidi veya metansülfonik asit gibi kuvvetli Bronsted asitleri veya $AlCl_3$ gibi Lewis asitleri ile gerçekleşmektedir. Yöntemde alkol, eter ve benzen gibi çözücüler tercih edilmekte ve tepkime yaklaşık yirmi dakika içerisinde tamamlanmaktadır. Ancak bu yöntem basit fenoller kullanılarak kumarin sentezini desteklememektedir (Heravi ve ark., 2014; Manhas ve ark., 2006).



Şekil 1.3. Pechmann tepkimesi ile kumarin sentezi (Heravi ve ark., 2014).

1.2.2.2. Perkin Tepkimesi İle Kumarin Sentezi

Bu yöntem İngiliz kimyager William Perkin tarafından keşfedilmiştir. Yöntemde asetik anhidritin sodyum asetat gibi bazik bir tuz kullanılarak, salisilaldehit ile reaksiyonuyla kumarin elde edilmektedir. Perkin reaksiyonunun birkaç avantajı ve dezavantajı bulunmaktadır. Reaksiyon süresince yan ürün olarak kroman bazlı türevlerin oluşmaması reaksiyon açısından bir avantajdır. Ancak reaksiyonun gerçekleşmesi için uygulanan sıcaklık, birçok yan ürünün oluşmasına sebep olmakta, bu durum da reaksiyon verimini düşürmektedir. Bu dezavantaj anhidrit konsantrasyonu, aldehit konsantrasyonunun iki katı olacak şekilde ortadan kaldırılabilmektedir (Mustafa ve ark., 2020).

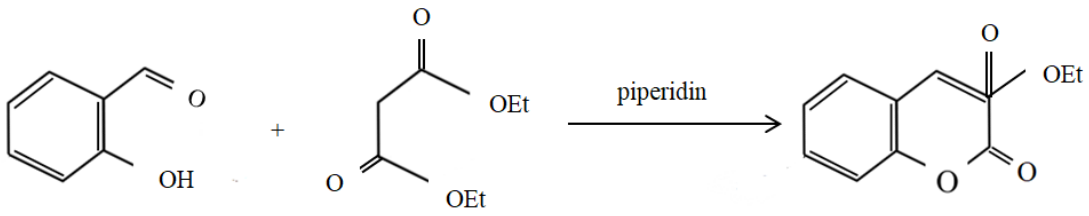


Şekil 1.4. Perkin tepkimesi ile kumarin sentezi (Mustafa ve ark., 2020).

1.2.2.3. Knoevenagel Tepkimesi ile Kumarin Sentezi

Bu yöntem Alman kimyager Heinrich Knoevenagel tarafından keşfedilmiştir. Keşfedilen bu yöntem, kumarin sentezi için en basit yöntemlerden biridir. Yöntemde, uçucu olmaması, alev almaması ve kararlı olması sebepleriyle genellikle iyonik sıvılar kullanılmaktadır. Ancak, iyonik sıvıların toksik olması ve maliyetlerinin yüksek olması sebepleriyle kullanım alanları sınırlıdır (Phadtare ve Shankarling, 2012).

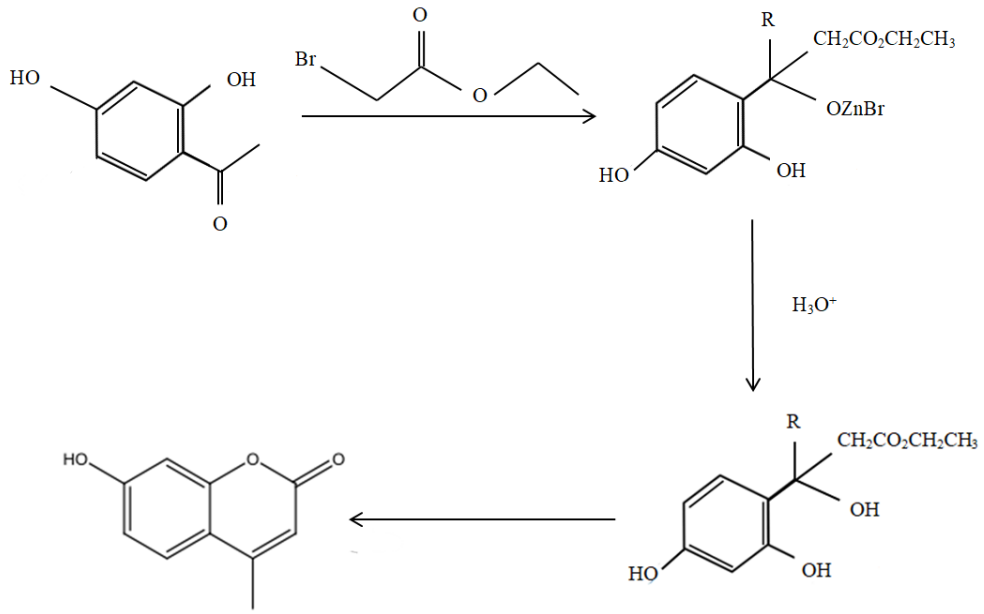
Knoevenagel tepkimesi iki adımda gerçekleşmektedir. İlk adımda etil malonat ve salisiladehitin kondenzasyonu ile su ayrılmakta, ikinci adımda ise molekül içi kondenzasyon ile etanol eliminasyonu ve halka kapanması gerçekleşmektedir (Taşkıran, 2010).



Şekil 1.5. Knoevenagel tepkimesi ile kumarin sentezi (Taşkıran, 2010).

1.2.2.4. Reformatsky Tepkimesi ile Kumarin Sentezi

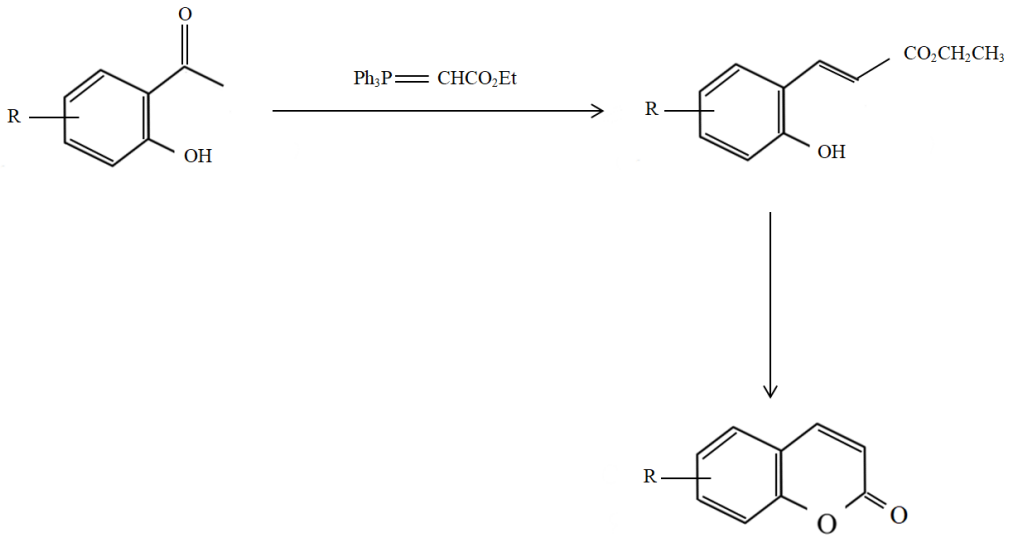
Bu yöntemde o-hidroksiarilalkil ketonlar ile α karbonuna brom bağlı olan ester türevleri, çinko katalizörlüğünde tepkimeye girmektedir. Tepkime sonucunda 3,4-dialkil sübstitüentli kumarin türevleri oluşmaktadır (Taştemel, 2013).



Şekil 1.6. Reformatsky tepkimesi ile kumarin sentezi (Taştemel, 2013).

1.2.2.5. Wittig Tepkimesi İle Kumarin Sentezi

Bu yöntemde, o-hidroksikarbonil bileşikleri fosfonyum yilürlerle N,N-dietilanilin katalizörlüğünde tepkimeye girerek kumarin türevleri oluşturmaktadır (Taştemel, 2013).



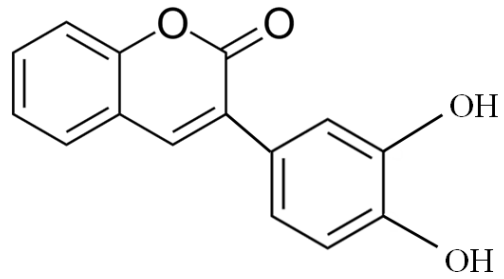
Şekil 1.7. Wittig tepkimesi ile kumarin sentezi (Taştemel, 2013).

BÖLÜM 2

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

2.1. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Hipoklorit tayini için kumarin türevli fluoresans sensör hazırlanması amacıyla aşağıdaki kimyasallar kullanılmıştır.



Hazırlanan Kumarin: 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarin

Molekül Formülü: $C_{15}H_{10}O_4$

Molekül Ağırlığı: 254,23 g/mol

Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan kumarin türevinin kimyasal formülü

Çalışmada kumarin esaslı sensörün hazırlanması amacıyla, salisilaldehit (C_6H_4CHO-2-OH), 3,4-dihidroksifenilasetik asit, sodyum asetat ($C_2H_3NaO_2$), asetik anhidrit ($C_4H_6O_3$), tetrahidrofuran (THF), metanol (CH_3OH), lityum hidroksit (LiOH) ve etanol (C_2H_5OH) kullanılmıştır.

Çalışmada hipoklorit türevi olarak NaClO kullanılmıştır. Çalışılan ortamın pH değeri ayarlanırken potasyum klorür (KCl) / hidroklorik asit (HCl) çözelti sistemi ve asetik asit (CH_3COOH) / sodyum asetat (CH_3COONa), monosodyum fosfat (NaH_2PO_4)/ disodyum fosfat (Na_2HPO_4) tampon çözeltileri kullanılmıştır.

Çalışmada hipokloritin standardizasyonu sırasında; ayarlı sodyum tiyosülfat ($Na_2S_2O_3$), sülfat asidi (H_2SO_4), potasyum iyodür (KI) ve nişasta çözeltileri kullanılmıştır.

Hazırlanan hipoklorit sensörüne yabancı iyon etkisi incelenirken, H_2O_2 ve Na^+, Fe^{3+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, K^+, Zn^{2+}, F^-, Cl^-, Br^-, NO_2^-, NO_3^-, SO_3^{2-}, SO_4^{2-} tür ve iyonlarını içeren çözeltiler hazırlanmıştır.

Kullanılan bütün kimyasal maddeler Merck firmasından temin edilmiştir.

Numunelerdeki hipoklorit iyonunu tespit edebilme amacıyla yapılan gerçek örnek çalışmalarında ise, musluk suyu ve hipoklorit iyonu içeren dezenfektan kullanılmıştır. Kullanılan dezenfektan NPS firmasından temin edilmiştir.

2.2. KULLANILAN CİHAZLAR

Fluoresans Spektrofotometresi : Bu yöntemde yapılan ölçümler Varian Carry Eclipse markalı fluoresans spektrometresi kullanılarak yapılmıştır.

Ultra Saf Su Cihazı : Çalışmada kullanılan saf su, Millipore Direct-Q®-3 Ultra Saf Su Cihazı aracılığıyla elde edilmiştir.

Hassas Terazi : Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin tartımı için 0,1 mg hassasiyete sahip, Precisa markasının XB 220A SCS model terazisi kullanılmıştır.

Magnetik Karıştırıcı : Çalışmada hazırlanan çözeltilerin karıştırılması aşamasında Velp ARE marka modele sahip, ısıtıcılı magnetik karıştırıcı kullanılmıştır.

pH metre : Çalışmada kullanılan çözeltiler hazırlanırken, ortamın pH'ını belirleyebilmek amacıyla WTW inoLab® pH 7110 Masa Tipi marka ve modele sahip pH metre kullanılmıştır.

Ultrasonik Banyo : Çalışmada çözeltilerin hazırlanması sırasında, çözünme işlemini kolaylaştırmak amacıyla Bandelin Sonorex Super RK 100H marka ve modele sahip ultrasonik banyo kullanılmıştır.

Makropipet : Çalışmada düşük konsantrasyonlu çözeltileri hazırlayabilmek amacıyla, Ependorph markalı makropipetler kullanılmıştır.

UV-Vis Spektrofotometresi : Çalışmada kullanılan kumarin türevinin hangi dalga boyunda uyarılması gerektiğine karar verebilmek amacıyla, Thermo Scientific Genesys 10S model UV-Vis spektrofotometresi kullanılmıştır.

Döner Buharlaştırıcı : Çalışmada kullanılan kumarin türevinin sentezlenmesi aşamasında Buchi R100 Rotary Evaporatör marka ve modele sahip döner buharlaştırıcı kullanılmıştır.

FTIR Spektrofotometresi : Çalışmada kullanılan kumarin türevinin Karakterizasyonu sırasında Perkin Elmer Spectrum 100 marka ve model ATR-FTIR spektrofotometre kullanılmıştır.

NMR Spektrofotometresi : Çalışmada kullanılan kumarin türevinin NMR spektrumunu incelemek amacıyla Bruker Avance III 500 MHz marka ve modele sahip NMR spektrofotometresi kullanılmıştır.

2.3. DENEYSEL YÖNTEM

2.3.1. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Sentezi

Çalışmamızda kullanılan kumarinin sentezlenmesi aşamasında salisilaldehit ve 3,4-dihidroksifenil asetik asit maddeleri kullanılmıştır. Sentez Perkin yöntemine göre iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Kumarinin sensörün sentez aşamaları Şekil 3.1.'de verilmiştir.

2.3.2. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Karakterizasyonu

2.3.2.1. FTIR Spektrumu

Çalışmamızda FTIR spektrofotometresi yardımı ile 4000 cm^{-1} ve 800 cm^{-1} dalga boyları aralığında tarama yapılarak, hazırlanan kumarin esaslı sensöre ait FTIR spektrumu elde edilmiş ve ilgili spektrum Şekil 3.2.'de verilmiştir.

2.3.2.2. NMR Spektrumu

Çalışmamızda sentezlenen kumarinin molekül yapısını tayin edebilmek amacıyla Bruker Avance III 500 MHz marka ve modele sahip NMR spektrofotometresinden yararlanılmıştır. Elde edilen spektrum Şekil 3.3.'te verilmiştir.

2.3.3. Çözeltilerin Hazırlanması

2.3.3.1. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan çözeltilerin pH değerlerinin ayarlanması amacıyla pH: 1- 8,5 aralığındaki değerleri sağlayacak tampon çözeltiler hazırlanmıştır. pH 1,0- 3,0 aralığındaki pH değerleri için HCl/KCl çözelti sistemi, pH 4,0- 6,0 için CH_3COOH / CH_3COONa ve pH 7,0- 8,5 için ise Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 tampon çözeltileri kullanılmıştır. Tampon çözeltiler, istenilen pH değeri için uygun hacimde kimyasal maddeler ve saf su kullanılarak, Britton Robinson tampon sistemi kullanılarak hazırlanmıştır.

2.3.3.2. Prob 1 ve Prob 2 Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanmak üzere sentezlemiş olduğumuz kumarinden 0,0304 gram alınarak son hacim etil alkolle birlikte 10 mL'ye tamamlanmıştır. Kumarinin etil alkol içerisinde çözünmesini sağlamak amacıyla ultrasonik banyodan yardım alınmıştır. Hazırlanan bu çözeltiye Prob 1 ismi verilmiştir. Prob 1 çözeltisinden 4,2 µL alınarak, 25 mL pH 7,4 tamponu ve 25 mL etil alkol kullanılarak son hacim 50 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiye ise, Prob 2 ismi verilmiştir. Deneysel çalışmalar sırasında Prob 2 çözeltisinden uygun hacimler alınarak ölçümler yapılmıştır.

2.3.3.3. Hipoklorit Çözeltilerinin Hazırlanması

Yöntemde fluoresans şiddetinin hacim değişiminden etkilenmemesi amacıyla farklı derişimlerde hipoklorit çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltiler hazırlanırken, NaClO çözeltisinden 0,5 mL alınarak hacmi saf su ile 50 mL'ye tamamlanıp, bu çözeltiye H-1 ismi verilmiştir. Daha sonra 5 mL alınarak hacmi saf su ile 50 mL'ye tamamlanmış ve bu çözeltiye H-2 ismi verilmiştir. Esas NaClO çözeltisine ise, H-3 ismi verilmiştir.

2.3.3.4. Yabancı İyon Etkisinin Araştırılması İçin Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Hazırlanan kumarin türevli hipoklorit sensörün farklı iyonların yanında fluoresans şiddetini gözlemleyebilmek amacıyla, H_2O_2 ve Na^+, Fe^{3+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, K^+, Zn^{2+}, F^-, Cl^-, Br^-, NO_2^-, NO_3^-, SO_3^{2-}, SO_4^{2-} tür ve iyonlarını içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltilerdeki yabancı tür mol sayısının, hipoklorit iyonu mol sayısının 10 katı olacak şekilde işlem yapılmıştır.

2.3.4. Analiz Parametrelerinin Belirlenmesi

2.3.4.1. Spektral Karakterizasyon Çalışması

Hazırlanan Prob 1 çözeltisinin hangi dalga boyunda uyarılması gerektiği UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak karar verilmiştir. Öncelikle UV-Vis spektrofotometresine etil alkol eklenerek ölçüm yapılmış, daha sonra ölçülen değerler sıfırlanarak Prob 1 çözeltisi ile işlemler tekrarlanmıştır. Böylelikle UV-Vis spektrofotometresinde görülen dalga boyları yalnızca kumarine ait bilgiler vermiştir. Elde edilen bilgiler doğrultusunda Prob 2 çözeltisinin fluoresans ölçümleri, fluoresans spektrofotometresi kullanılarak yapılmıştır. Uygun şartları elde edebilmek amacıyla UV-Vis spektrofotometresinden alınan bilgiler, farklı fotoçoğaltıcı tüp (PMT) voltajları ve farklı slit aralıkları ile deneme yapılmıştır. Kumarin bazlı hipoklorit sensörünün, hipoklorit varlığında ve yokluğunda emisyon dalga boyları değerlendirilerek, yöntem için uygun olan dalga boyu, slit aralığı ve fotoçoğaltıcı tüp voltajına karar verilmiştir.

2.3.4.2. Yöntem İçin Uygun pH Değerinin Belirlenmesi

Geliştirilen yöntemde uygun pH değerinin belirlenebilmesi amacıyla pH 1,0- 3,0 aralığındaki pH değerleri için HCl/KCl çözelti sistemi, pH 4,0- 6,0 için asetat tampon çözeltileri ve pH 7,0- 8,5 için ise fosfat tampon çözeltileri kullanılmıştır. Bu amaçla Prob 1 çözeltisinden 4,2 µL alınarak 25 mL pH: 1- 8,5 değerlerini sağlayacak tampon çözeltiler ve üzerlerine 25 mL etil alkol eklenerek Prob 2 çözeltileri elde edilmiştir. Elde edilen bu çözeltilerin üzerine 3 µL H-2 çözeltisi eklenerek fluoresans şiddetleri ölçülmüştür. Daha sonra pH değerleri ve fluoresans şiddetleri ile elde edilen grafik doğrultusunda, yöntem için uygun olan pH değerine karar verilmiştir.

2.3.4.3. Fluoresans Şiddeti Üzerine Sürenin Etkisi

Kumarin esaslı sensörün fluoresans şiddeti üzerine sürenin etkisini inceleyebilmek amacıyla $1,35x10^{-5}$ mol/L ClO^- iyonu varlığında 900 saniye boyunca ölçüm yapılmıştır. Ölçümler sonucunda süreye bağlı fluoresans değişimi grafiği çizilmiştir ve elde edilen grafik Şekil 3.7.'de verilmiştir.

2.3.4.4. Kalibrasyon Grafiği ve Tespit Sınırı

Kalibrasyon grafiği aşamasında, Prob 2 çözeltisi üzerine 1 µL, 3 µL ve 5 µL H-1 çözeltisi, 1 µL, 3 µL ve 5 µL H-2 çözeltisi, son olarak 1 µL, 3 µL ve 5 µL H-3 çözeltisi eklenerek toplam 9 adet çözelti oluşturulmuştur. Hazırlanan çözeltilerin fluoresans şiddetleri ölçülerek kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Kalibrasyon grafiğinde, fluoresans şiddetinin doğrusal olduğu aralık belirlenmiştir.

Tespit sınırı çalışmasında ise, Prob 2 çözeltisi üzerine 1 µL H-1 eklenerek toplam altı farklı çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin fluoresans şiddetindeki değişimler ölçülmüştür.

2.3.4.5. Yabancı İyon Etkisinin İncelenmesi

Hazırlanan sensörün hipoklorit iyonuna karşı seçici olup olmadığını tayin edebilmek için yabancı iyon etkisi incelenmiştir. Bu etkiyi araştırabilmek amacıyla Na^+, Fe^{3+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, K^+, Zn^{2+}, F^-, Cl^-, Br^-, NO_2^-, NO_3^-, SO_3^{2-}, SO_4^{2-}, H_2O_2 tür ve iyonlarını içeren çözeltiler kullanılmıştır. Hazırlanan yabancı iyon çözeltilerinin

fluoresans şiddetleri ölçülmüş, ölçülen bu şiddetlerdeki değişimin ±%5'i geçmeyecek şekilde hipoklorit iyonu tayinine olanak sağlayacağı gözlemlenmiştir.

2.3.4.6. Geri Kazanım ve Gerçek Örnek Çalışmaları

Çalışmada sulu ortamda hipoklorit iyonunu tayin edebilme amacıyla musluk suyu ve hipoklorit içeren bir dezenfektan çözeltisi ile çalışılmıştır. Geri kazanım çalışmasında 1 mL hipokloritin son hacmi musluk suyu ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiden, Prob 2 üzerine 1 µL, 3 µL ve 5 µL hacimlerde eklenerek üç farklı çözelti oluşturulup, fluoresans şiddetleri ölçülmüştür. Bu işlemler her hacim için üçer kez tekrarlanmıştır.

Gerçek örnek çalışmasında ise hipoklorit içeren dezenfektan çözeltisi kullanılmıştır. Bu amaçla, Prob 2 çözeltisi üzerinde ayrı ayrı 10 µL dezenfektan, 10 µL saf su, 5 µL saf su ve 5 µL dezenfektan, 7 µL saf su ve 3 µL dezenfektan eklenerek 4 farklı çözelti oluşturulmuştur. Oluşturulan bu çözeltilerin fluoresans şiddetleri ölçülmüştür.

BÖLÜM 3

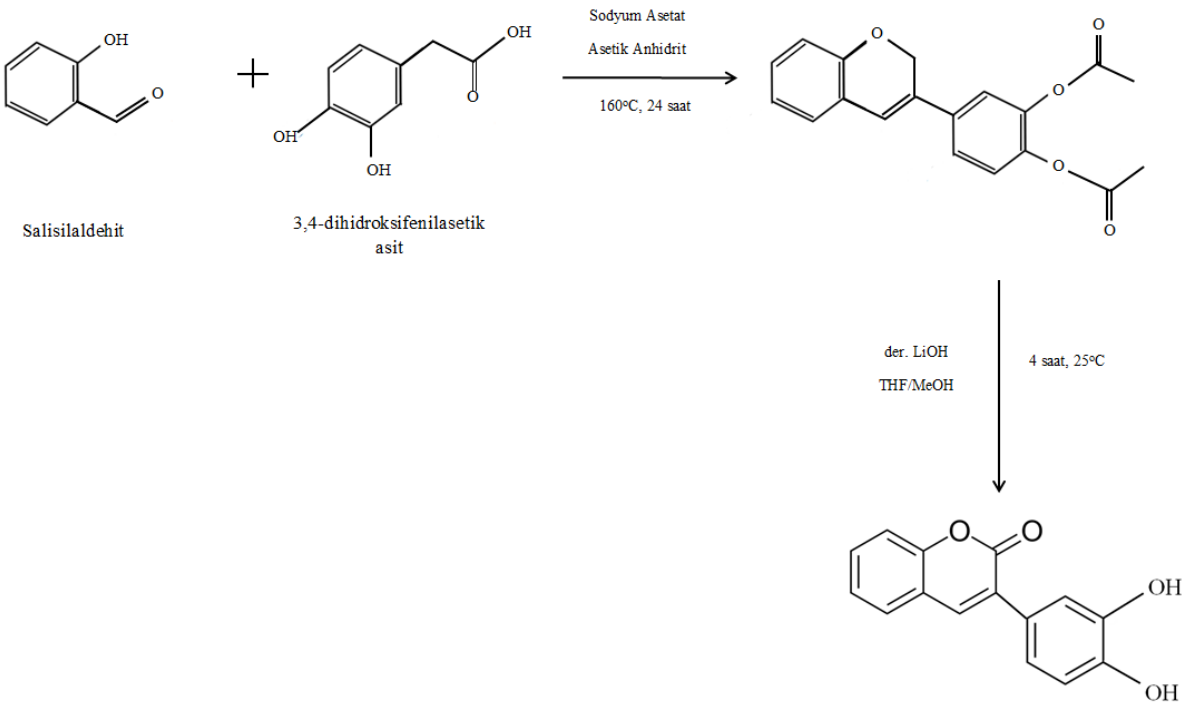
SONUÇLAR

3.1. KUMARİN TÜREVLİ SENSÖRÜN SENTEZLENMESİ

3.1.1. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Sentezi

Çalışmada kullanılan kumarinin sentezlenmesi amacıyla 3 gram salisilaldehit ve 4,130 gram 3,4-dihidroksifenilasetik asit reaksiyon balonuna alınarak üzerine 3,022 gram sodyum asetat ilave edilmiştir. Eklenen bu malzemeler 15 mL asetik anhidrit kullanılarak çözülmüştür. Reaksiyon balonunun ağzı kapatılarak, balon 160°C'ye ısıtılmıştır.

Reaksiyon başladıktan 24 saat sonra TLC ile kontrol edilip, saf su eklenerek oluşan katı süzülüp kurutulmuştur. Hidroksi gruplarının asetillenmesinden kaynaklanan reaksiyon ürününü deasetilleme yapabilmek amacıyla ürün, reaksiyon balonuna tekrar alınmıştır. Madde 100 mL THF/MeOH içerisinde çözülüp üzerine 5 mL saf su ve doygun LiOH çözeltisi ilave edilerek 4 saat karıştırılıp TLC ile kontrol edilmiştir. Daha sonra THF ve MeOH döner buharlaştırıcıdan çekildikten sonra ürün süzülüp kurutulmuştur. Etanol ile yeniden kristallendirme metoduyla saflaştırılan ürün, FT-IR ve ^{1}H-NMR ile karakterize edilmiştir.



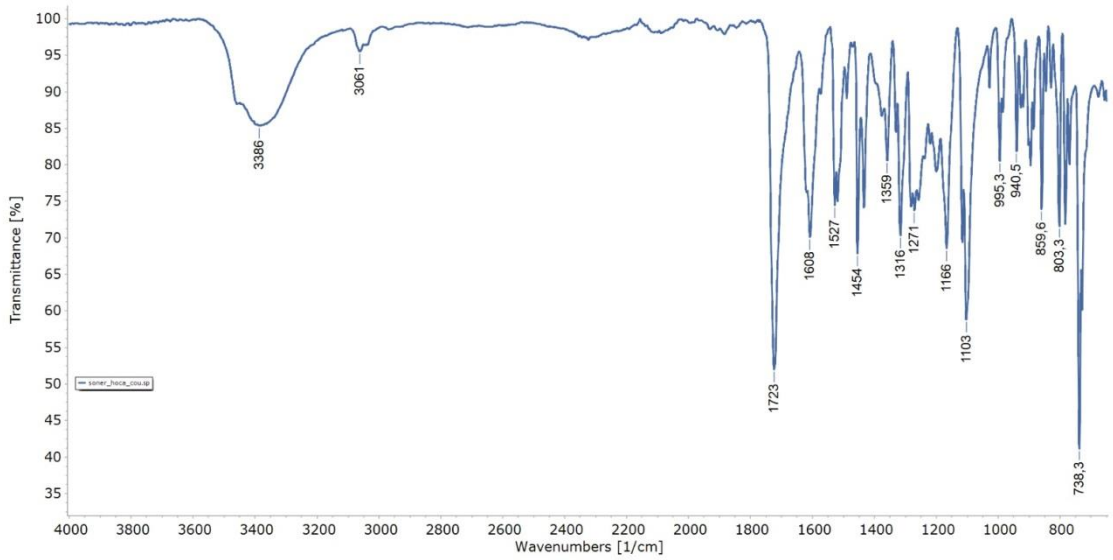
Şekil 3.1. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin sentez şeması.

3.1.2. 3-(3,4-dihidroksifenil) Kumarinin Karakterizasyonu

3.1.2.1. FTIR Spektrumu

FTIR spektrumu sonuçları doğrultusunda; 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarin bileşiğinin üzerinde bulunan 2 adet hidroksi (-OH) grubunun titreşimleri 3386 cm^{-1}'de geniş, yayvan bir bant olarak görülmüştür. Aromatik karbon-hidrojen titreşimleri 3061 cm^{-1}'de görülürken, alifatik karbon-hidrojen titreşimleri 2830-2960 cm^{-1} aralığında iki adet ufak pik şeklinde gözlemlenmiştir. Piron halkasında bulunan karbonil grubunun piki ise, 1723 cm^{-1}'de keskin bir bant olarak görülmüştür. Aromatik C=C çift bağları ise, 1454-1527 cm^{-1} aralığında çoklu pikler şeklinde gözlemlenmiştir.

Tüm bu sonuçlar doğrultusunda 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarin bileşiğinin FTIR spektrumu, literatürdeki kumarin değerleriyle uyumludur ve kumarinin doğru şekilde eldesi hakkında da fikir vermektedir.

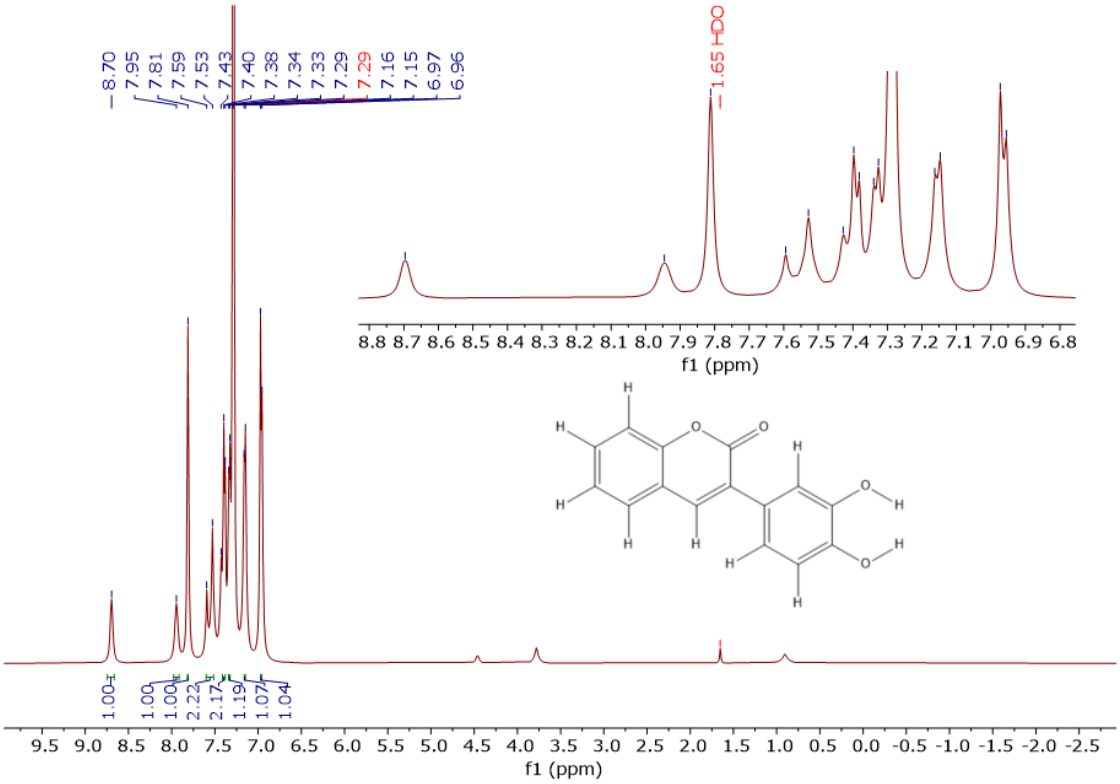


Şekil 3.2. 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarinin FTIR spektrumu.

3.1.2.2. NMR spektrumu

Çalışmada sentezlenen 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarin bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu incelendiğinde yapı üzerinde alifatik grup olmadığı ve bu sebeple tüm aromatik piklerin 8,70-6,96 ppm aralığında bulunduğu görülmüştür.

Fenil halkası üzerinde bulunan 2 tane komşu hidroksi grubun protonları 3. karbona bağlı hidroksi grubu için 8.70 ppm'de, 4. karbona bağlı hidroksi grubu için 7,95 ppm'de görülmüştür. Kumarin yapısının lakton halkasına komşu olan benzen halkasındaki protonlar ise, komşu hidrojenlerinden kaynaklı yarılmalarla multiplet şeklinde görülmüştür. Tüm bu sonuçlar doğrultusunda integrasyon değerleri uyum içerisinde ve yapı doğrulanmaktadır.



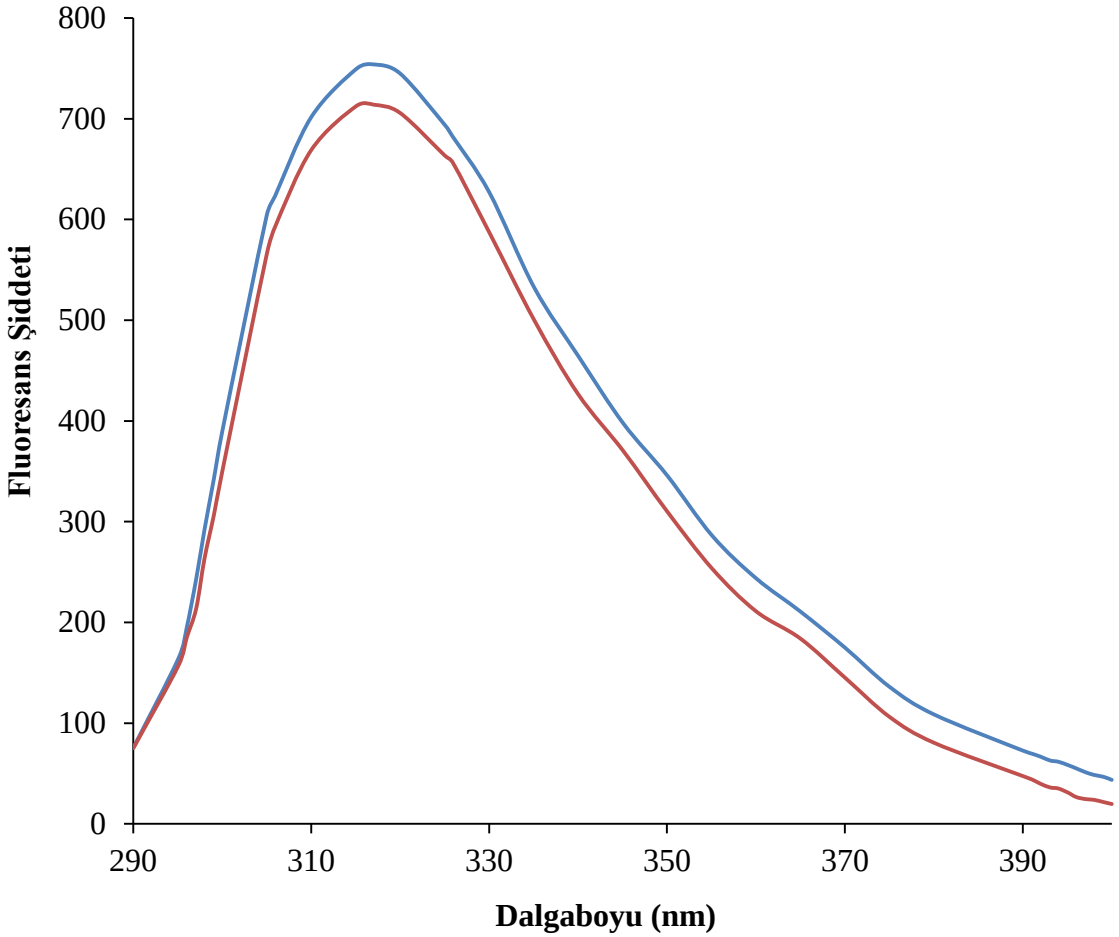
Şekil 3.3. 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarin bileşiğinin ^{1}H-NMR spektrumu.

3.2. SENSÖRÜN SPEKTRAL KARAKTERİZASYON ÇALIŞMASI

Hazırlanan Prob 1 çözeltisinin hangi dalga boyunda uyarılacağına karar verilirken kullanılan UV-Vis spektrofotometresinde görülen dalga boyları şekilde verilmiştir.

Elde edilen bilgiler doğrultusunda Prob 2 çözeltisi kullanılarak farklı slit aralıkları ve farklı fotoçoğaltıcı tüp voltajları ile fluoresans spektrofotometresinde deneme yapılmıştır. Ölçümler için uygun uyarma dalga boyu 275 nm, emisyon dalga boyu 318 nm, slit aralığı 10 nm ve fotoçoğaltıcı tüp voltajı 635V olarak belirlenmiştir.

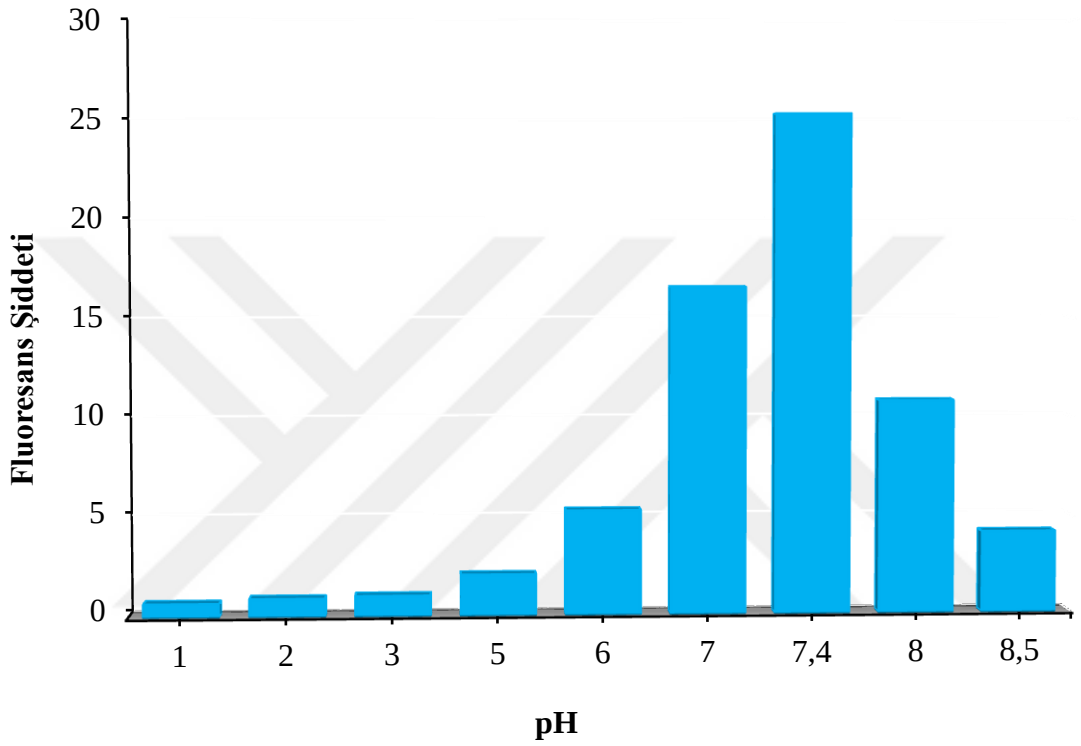
Kumarin esaslı sensörün uyarma ve emisyon dalga boyları tespit edildikten sonra $1{,}35 \times 10^{-5}$ mol/L ClO^- iyonu varlığında spektrum taraması yapılmıştır. Hipoklorit iyonu varlığında fluoresans şiddetinde azalma görülmüştür. Bu bilgiler doğrultusunda elde edilen spektrum Şekil 3.5.'de verilmiştir.



Şekil 3.4. 10^{-5} mol/L konsantrasyonundaki 3-(3,4-dihidroksifenil) kumarinin $1{,}35x10^{-5}$ mol/L hipoklorit iyonu varlığında (kırmızı) ve yokluğunda (mavi) fluoresans spektrumu (λ_{uy}: 275 nm).

3.3. YÖNTEM İÇİN UYGUN pH DEĞERİNİN BELİRLENMESİ

Yöntem üzerine pH etkisini inceleyebilmek amacıyla pH: 1- 8,5 aralığındaki değerleri sağlayacak tampon çözeltiler kullanılmıştır. Bu tampon çözeltilerin hipoklorit varlığında verdikleri fluoresans şiddetleri kaydedilip, şekilde verilmiştir.

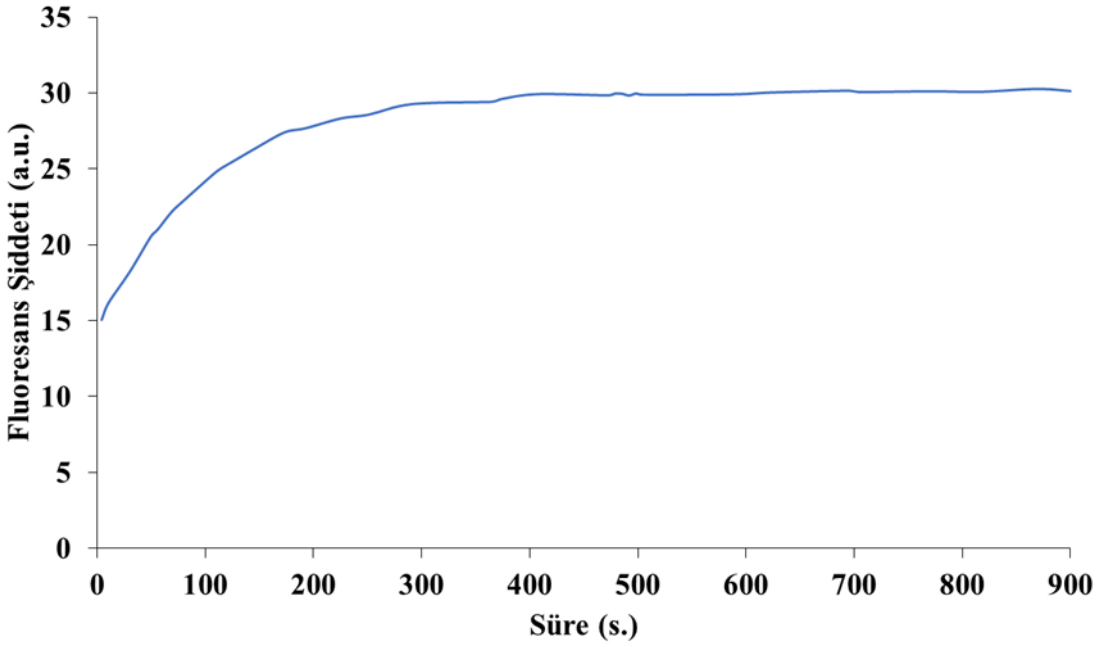


Şekil 3.5. Farklı pH değerlerinin fluoresans şiddeti üzerindeki etkisi.

Şekil incelendiğinde pH 7,4'te fluoresans şiddetinin en yüksek olduğu, bu sebeple yöntem için en uygun pH'ın 7,4 olduğu görülmüştür. Bu pH değeri literatürde yer alan benzer hipoklorit tayin yöntemlerinde kullanılan pH değerleri ile de benzerlik göstermektedir (Abraham ve ark., 2010; Alhbou ve ark., 2020).

3.4. FLUORESANS ŞİDDETİ ÜZERİNE SÜRENİN ETKİSİ

Fluoresans şiddeti üzerine sürenin etkisini inceleyebilmek amacıyla $1{,}35.10^{-5}$ mol/L ClO^- iyonu varlığında 900 saniye boyunca ölçüm yapılmıştır. Ölçümler sonucunda fluoresans şiddetinin 280 saniye kadar artış gösterdiği, daha sonra ise sabit kaldığı gözlemlenmiştir. Fluoresans şiddetinin sabit kaldığı aralık 280-900 saniye olarak belirlenmiş, çalışma boyunca yapılacak ölçümler için bekleme süresine 280 saniye olarak karar verilmiştir.

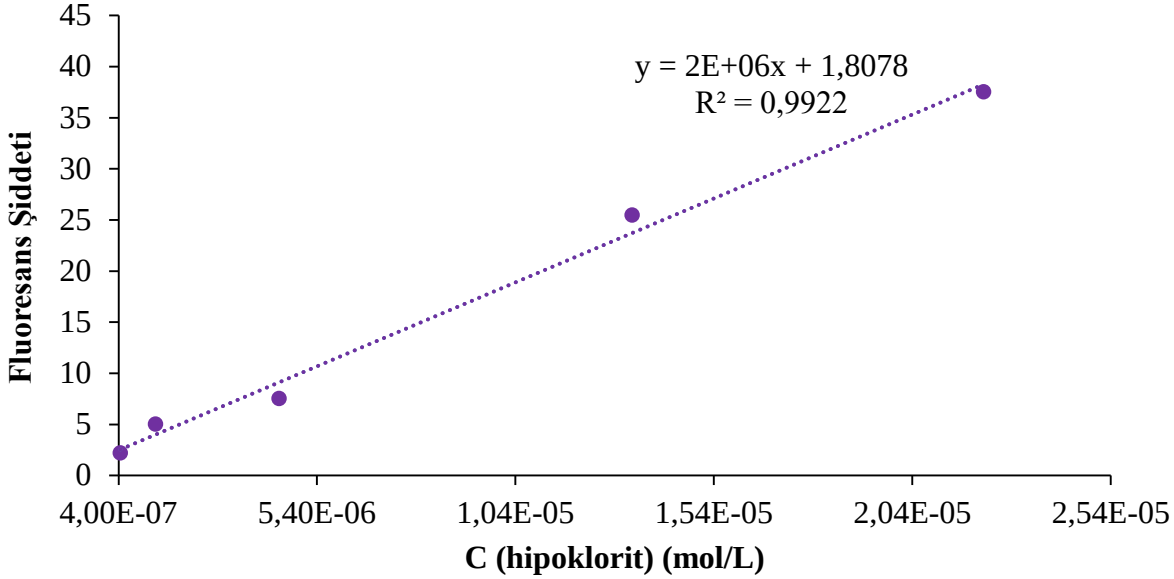


Şekil 3.6. $1{,}35x10^{-5}$ mol/L ClO^- iyonu varlığında kumarin esaslı sensörün fluoresans şiddetinin süreye bağlı değişimi.

3.5. KALİBRASYON GRAFİĞİ VE TESPİT SINIRI

Kalibrasyon grafiğini oluşturabilmek amacıyla pH 7,4 tampon çözeltisinde oluşturulmuş Prob 2 ve farklı konsantrasyonlardaki hipoklorit çözeltileri ile 9 çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin fluoresans şiddetleri ölçülmüş, fluoresans şiddetlerinin grafiğe aktarılmasıyla birlikte en uygun doğrusallık aralığı $4{,}47.10^{-7}$-$2{,}22.10^{-5}$ mol/L olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyondan yüksek seviyelerde, doğrusallıkta sapma olduğu görülmüştür.

Tespit sınırı çalışmalarında ise, pH 7,4 tampon çözeltisinde hazırlanmış Prob 2 çözeltisi üzerine 1 µL H-1 eklenerek 6 farklı çözelti kullanılmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin fluoresans şiddetlerinin ölçülmesiyle elde edilen sonuçlar doğrultusunda, standart sapma değerinin 3 katı alınarak tespit sınırı $1{,}09.10^{-6}$ mol/L olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.7. pH: 7,4'te elde edilen kalibrasyon grafiği (λuy: 275 nm, λem: 320 nm).

3.6. YABANCI İYON ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Çalışmada hazırlanan sensöre yabancı iyon etkisini incelemek amacıyla, H_2O_2 ve Na^+, Fe^{3+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, K^+, Zn^{2+}, F^-, Cl^-, Br^-, NO_2^-, NO_3^-, SO_3^{2-}, SO_4^{2-} tür ve iyonlarını içeren çözeltiler ile deneme yapılmıştır. Kullanılan yabancı iyonların mol sayısının, hipoklorit iyonu mol sayısının 10 katı olacak şekilde ayarlanarak, fluoresans ölçümleri kaydedilmiştir. Kabul edilebilir alt ve üst limit, fluoresans şiddetinde en fazla %5 değişiklik meydana geleceği dikkate alınarak belirlenmiştir. Hipoklorit iyon tayini için kullanılan yabancı iyonların kabul edilebilir üst limit değerleri tabloda verilmiştir.

Tablo 3.1. 1,35x10^{-5} mol/L ClO^- iyonu varlığında girişime sebep olabilecek yabancı iyonların kabul edilebilir üst limit değerleri.

Yabancı İyon/Tür	Kabul Edilebilir Üst Limit (mol L^{-1})
Cl^-	$1{,}34.10^{-4}$
NO_3^-	$1{,}34.10^{-4}$
SO_4^{2-}	$3{,}05.10^{-4}$
Zn^{2+}	$2{,}11.10^{-4}$
Br^-	$1{,}34.10^{-4}$
Ca^{2+}	$1{,}93.10^{-4}$
IO_3^-	$1{,}34.10^{-4}$
NO_2^-	$1{,}34.10^{-4}$
SO_3^{2-}	$1{,}34.10^{-4}$
Mg^{2+}	$2{,}32.10^{-4}$
F^-	$1{,}34.10^{-4}$
Ba^{2+}	$1{,}34.10^{-4}$
Fe^{3+}	$5{,}60.10^{-5}$
Cu^{2+}	$4{,}32.10^{-5}$
H_2O_2	$3{,}30.10^{-4}$

Hazırlanan sensörün yabancı iyonların varlığında da hipoklorite karşı duyarlı olduğu, bu sebeple yöntemin hipoklorit için seçici davrandığı görülmüştür.

3.7. GERİ KAZANIM VE GERÇEK ÖRNEK ÇALIŞMALARI

Geri kazanım çalışmasında pH 7,4 tamponu ile hazırlamış Prob 2 çözeltisi ve hipoklorit ile kirletilmiş musluk suyu kullanılmıştır. Bu amaçla örnekten farklı derişimler alınarak 9 çözelti hazırlanmış ve hazırlanan çözeltilerin fluoresans şiddetleri ölçülmüştür. Geliştirilen yönteme ait geri kazanım sonuçları tabloda verilmiştir.

Tablo 3.2. Sensörün geri kazanım çalışmaları (n=9).

Örnek	İlave edilen ClO^- (mol L^{-1})	Geri Kazanım (%)
Musluk Suyu	$4{,}47.10^{-6}$	100,75
	$1{,}34.10^{-5}$	97,39
	$2{,}23.10^{-5}$	102,76

Gerçek örnek çalışmasında ise hipoklorit içeren dezenfektan çözeltisi kullanılarak fluoresans ölçümleri yapılmıştır. İlgili sonuçlar tabloda verilmiştir.

Tablo 3.3. Sensörün gerçek örnek çalışmalarına ait sonuçlar ve bağıl hatalar.

Mevcut ClO^- (mol L^{-1})	Bağıl Hata (%)
$3{,}17.10^{-6}$	4,80
$5{,}28.10^{-6}$	1,35
$1{,}06.10^{-5}$	1,79

BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE DEĞERLENDİRME

Çalışmamızda, ClO^- iyonu tayini için kumarin esaslı sensör geliştirilmiştir. Bu amaçla $C_{15}H_{10}O_4$ kapalı formüllü hidroksit grubuna sahip olan kumarin etil alkol içinde çözülüp, etil alkol ve pH 7,4 tampon çözeltisi içinde hacmi 50 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti UV-Vis cihazı ile taranmış ve uyarma dalga boyu 275 nm, emisyon dalga boyu ise 320 nm olarak ölçülmüştür. Hipoklorit varlığında ise fluoresans şiddetinde azalma olduğu gözlemlenmiştir.

Hazırlanan kumarin esaslı sensöre pH, reaksiyon süresi, yabancı iyon etkisi gibi değişkenlerin etkisi incelenmiştir. Fluoresans şiddetine olan pH etkisini ölçebilmek amacıyla pH:1-8,5 değerlerini sağlayacak çözelti sistemleri ve tampon çözeltiler kullanılmış ve hipoklorit varlığında fluoresans şiddetleri ölçülmüştür. Bu ölçümler sonucunda en uygun pH değerinin pH: 7,4 olduğu gözlemlenmiştir. Canlı hücrelerde aşırı ROS birikimi canlı vücudu için zararlı olduğundan, geliştirilen sensörün hücre içinde de kullanılabilir olması gerekmektedir. Çalışmamızın yapıldığı bu pH değeri, sentezlenen kumarin esaslı sensörün biyolojik koşullarda da etki gösterebileceğine işaret etmektedir.

Literatürde incelenen bazı çalışmalarda ClO^- iyonunun pH 7,4 değerinde, çalışmada kullanılan kumarinin çift bağ karbonlarına saldırdığı ve π bağını kırıp yapıya katıldığı görülmektedir. pH 7,4 değerinin üstünde veya altında ise reaksiyon veriminin düştüğü görülmektedir (Yang ve ark., 2021; Xie ve ark., 2020). Bu sebeple çalışmamızda benzer bir reaksiyon gerçekleştiği düşünülmektedir.

Ölçümler sonrasında en uygun sürenin 280 saniye, tespit sınırı $1{,}09.10^{-6}$ mol/L, doğrusallık aralığı ise $4{,}47.10^{-7}$-$2{,}22.10^{-5}$ mol/L olarak tespit edilmiştir.

Geliştirilen sensörün hipoklorite olan seçiciliğini belirleyebilmek amacıyla kalibrasyon aralığı içerisinde yer alan bir konsantrasyon değeri seçilerek ($1{,}35.10^{-5}$ mol/L) çeşitli iyonlar varlığında fluoresans ölçümleri yapılmıştır. Hipokloritin birçok iyonun varlığında (10-25 mol katı aralığında olsa bile) ±%5 kabul edilebilir limitler dahilinde başarılı bir şekilde tayin edilebilir olduğu görülmüştür.

Geliştirdiğimiz yöntemin geri kazanım çalışmalarında ise musluk suyu kullanılmıştır. Bu amaçla sensör üzerine musluk suyu ve farklı derişimlerde hipoklorit iyonu eklenerek üç farklı çözelti hazırlanmış ve her bir çözeltinin fluoresans şiddetleri üçer kez ölçülmüştür. Hipoklorit iyonu ilave edilen musluk sularına ait geri kazanım değerleri, üç farklı çözelti için %97,39- 102,76 aralığında hesaplanmıştır.

Geliştirdiğimiz sensörün gerçek örnek çalışmalarında ise, hipoklorit içeren dezenfektan çözeltisi kullanılmıştır. Hazırlanan 3 farklı çözelti için bağıl hata değerleri %1,35- 4,80 aralığında hesaplanmıştır. Bu çalışmayla geliştirilen yöntemin gerçek örneklere uygulanabilirliği test edilmiştir.

Sonuç olarak geliştirdiğimiz yöntem hipoklorit iyonu tayini için, daha önce literatürde kullanılmamış bir kumarin türevi kullanılmış olması sebebiyle, literatürde var olan diğer çalışmalara alternatif olabilecek bir çalışmadır. Bununla birlikte geliştirdiğimiz sensörün hipoklorit tayinini kısa bir sürede gerçekleştirebilmesi, ekonomik bir yöntem olması ve çevreye zararlı atık madde içermemesi sebebiyle gelecekteki çalışmalara öncü olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Abraham, K., Wöhrlin, F., Lindtner, O., Heinemeyer, G., Lampen, A. (2010), Toxicology and risk assessment of coumarin: Focus on human data, Molecular Nutrition & Food Research, 54, 228-239.

Alhbou, Y. (2020), Ratlarda Açık Yara Tedavisinde Etakridin Laktat ve Hipokloröz Asit'in Etkinliğinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale, Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Alim, B., Öztürk, T., Güneşer, M. (2019), Endodontik Tedavi Sırasında Sodyum Hipokloritin Yanlışlıkla Apikalden Yumuşak Dokulara Ekstrüzyonu: Olgu Bildirimi, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 46(3), 167-172.

Arık, B., Körlü, A., Duran, K. (2008), Lakkaz Enzimlerinin Tekstilde Kullanım Alanları, Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 2, 17-22.

Ateş, F. (2020), Water, Salt, Hypochlorous Acid and Infection Protection, *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 3(2), 154-160.

Bayramoğlu, G. (2019), Bazı Kumarin 3-Karboksilik Asit Türevlerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Chen, H., Sun, T., Qiao, X., Tang, Q., Zhao, S., Zhou, Z. (2018), Red-emitting fluorescent probe for detecting hypochlorite acid in vitro and in vivo, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 204, 196-202.

Cheng, X., Qu, S., Zhong, Z., Li, W. (2017), Coumarin-Based Fluorescent Probe for Hypochlorites and Real Application in Tap Water, *Journal of Fluorescence*, 27, 1427-1433.

Çelik, E. (2015), İçmesuyu Tesislerinde Sıvı Klor, Gaz Klor ve Tuzdan Klor Elde Edilerek Klorlama Yapılması Alternatiflerinin İncelenerek Teknik Ekonomik ve Uygun Kullanım Yerleri Açısından Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, İller Bankası Anonim Şirketi.

Demirbaş, K. (2011), İçme Sularında Dezenfeksiyon Yan Ürünlerinin Oluşumunu Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Du, L., Qian, H., Zhou, W., Yang, Q., Sun, X., Wang, L. (2022), A new coumarin-based “turn-on” fluorescence probe with high sensitivity and specificity for detecting hypochlorite ion, Dyes and Pigments, 200.

Egan, D., O’Kennedy, R., Moran, E., Cox, D., Prosser, E., Thornes, R. (1990), The Pharmacology, Metabolism, Analysis, and Applications of Coumarin and Coumarin-Related Compounds, Drug Metabolism Reviews, 22(5), 503-529.

Froner, G., Rutherford, G., Rokeach, M. (1987), Injection of Sodium Hypochlorite by Intravenous Drug Users, The Journal of the American Medical Association, 258(3), 325.

Gerişlioğlu, S. (2013), Dezenfektan Amaçlı Kullanılan NaDDC ve Kalsiyum Hipoklorit İçerikli Efervesan Tabletlerin Üretim Prosesinin Geliştirilmesi, Ankara, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. (1997), *Kimyasallar ve Çevre,* Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı.

Gümüşkaya, E., Serin, Z., Ondaral, S., Ustaömer, D. (2003), Buğday (Triticum aestevum L.) Sapı Soda-Oksijen Kağıt Hamurunun Kimyasal ve Kristal Yapısı ile Optik Özellikleri Arasındaki İlişkiler, Artvin Orman Fakültesi Dergisi, 2, 14-20.

Harley, E., Collins, M. (1997), Liquid Household Bleach Ingestion in Children: A Retrospective Review, Laryngoscope, 107, 122-125.

Has, M. (2019), Sakarya İli Şebeke Suyunda THM Miktarının Belirlenmesi ve Risk Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Havabilen, V. (2022), Kedi ve Köpeklerdeki Açık Yaralarda Crystalin Sprey ve Froximun Tozun İyileşme Üzerine Olan Etkilerinin Karşılaştırılmalı Olarak Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Heravi, M., Khaghaninejad, S., Mostofi, M. (2014), Pechmann Reaction in the Synthesis of Coumarin Derivatives, Advances in Heterocyclic Chemistry, 112, 1-50.

Hou, J., Wang, B., Fan, P., Duan, R., Cao, X., Zhu, L., Wang, S. (2020), A novel benzothiazine-fused Coumarin Derivative for sensing hypochlorite with high perfomance, Dyes and Pigments, 182.

Hoy, R. (1981), Accidental Systemic Exposure to Sodium Hypochlorite (Clorox) during Hemodialysis, American Journal of Hospital Pharmacy, 38(10), 1512-1514.

Hsu, C., Huang, W., Wang, H. (2011), Evaluation of disinfection efficiency between sodium hypochlorite and chlorine dioxide on spa water, *Environmental Resources Management, 21*(6), 347-351.

İnkaya, T., Eren, H., Aniş, P. (2008), Pamuk Ağartılmasında Lakkaz/Mediatör Sistemlerin Oksijen ve Ozon ile Kombine Edilmesi, Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 14(1), 77-82.

İstanbul Su ve Kanalizasyon İdaresi (2010), Su Kalite Kontrol Laboratuvarları.

Jain, P., Joshi, H. (2012), 56. Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2, 236-240.

Ji, R., Qin, K., Liu, A., Zhu, Y., Ge, Y. (2018), A simple and fast-response fluorescent probe for hypochlorite in living cells, *Tetrahedron Letters*, 24 (59), 2372-2375.

Jin, L., Tan, X., Dai, L., Zhao, L., Wang, W., Wang, Q. (2019), A novel coumarin-based fluorescent probe with fine selectivity and sensitivity for hypochlorite and its application in cell imaging, *Talanta*, 202, 190-197.

Karabulut, H., Gülay, M. (2016), Serbest Radikaller, *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4.

Kaufman, A., Keila, S. (1989), Hypersensitivity to sodium hypochlorite, *Journal of Endodontics, 15*(5), 224-226.

Kurtdede, E., Pekcan, M., Karagül, H. (2018), Florun Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres ile İlişkileri, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13, 373-379.

Külekçi, G. (2005), Klor Verici Dezenfektanların Kullanım İlkeleri Hangi Şartlarda, Hangi Amaçlarla Kullanılır? Türevleri Nelerdir?, 4. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi, 207-219.

Lake, B. (1999), Coumarin Metabolism, Toxicity and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment, Food and Chemical Toxicology, 37(4), 423-453.

Lang,U. (2013), Combating rot and smell – guiding theme for implementation of antiseptic substances in the 18th and 19th century, *International Congress of History of Science, Technology and Medicine*, Manchester, UK.

Li, P., Sun, Y., Zhang, X., Wu, X., Li, R., Cao, D., Guan, R., Liu, Z., Ma, L. (2021), Photophysical properties of a coumarin amide derivative and its sensing for hypochlorite, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 411.

Li, T., Wang, L., Lin, S., Xu, X., Liu, M., Shen, S., Yan, Z., Mo, R. (2018), Rational Design and Bioimaging Applications of Highly Specific "Turn-On" Fluorescent Probe for Hypochlorite, *American Chemical Society*, 29 (8), 2838-2845.

Long, L., Zhang, D., Li, Z., Zhang, J., Zhang, C., Zhou, L. (2013), A fluorescence ratiometric sensor for hypochlorite based on a novel dual-fluorophore response approach, *Analytica Chimica Acta*, 775, 100-105.

Ma, C., Zhong, G., Zhao, Y., Zhang, P., Fu, Y., Shen, B. (2020), Recent development of synthetic probes for detection of hypochlorous acid/hypochlorite, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 240.

Ma, L., Sun, S., Wang, Y., Jiang, K., Zhu, J., Li, J., Lin, H. (2017), A graphene quantum dot-based fluorescent nanoprobe for hypochlorite detection in water and in living cells, Microchimica Acta, 184, 3833-3840.

Manhas, M., Ganguly, S., Mukherjee, S., Jain, A., Bose, A. (2006), Microwave initiated reactions: Pechmann coumarin synthesis, Biginelli reaction, and acylation, Tetrahedron Letters, 47(14), 2423-2425.

Mishra, S., Pandey, A., Manvati, S. (2019), Coumarin: An emerging antiviral agent, Heliyon, 6(1).

Mustafa, Y., Bashir, M., Oglah, M. (2020), Original and Innovative Advances in the Synthetic Schemes of Coumarin-Based Derivatives: A Review, Systematic Reviews in Pharmacy, 11(6), 598-612.

Mutluay, A., Mutluay, M. (2015), Sodyum Hipoklorit: Endodontide Kullanım Alanları, 25(2), 258-265.

Nguyen, V., Heo, S., Kim, S., Swamy, K., Ha, J., Park, S., Yoon, J. (2020), A thiocoumarin-based turn-on fluorescent probe for hypochlorite detection and its application to live-cell imaging, 317.

Ong, J., Pang, V., Tng, L., Ang, W. (2018), Pre-Assembled Coumarin–Rhodamine Scaffold for Ratiometric Sensing of Nitric Oxide and Hypochlorite, *Chemistry A European Journal*, 24, 1870-1876.

Orguneser, A. (1998), Cetrexidin, Sodyum Hipoklorit Ve Klorheksidinin Antimikrobiyal Etkilerinin In Vitro Olarak İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Ozbay, S., Sireli, U., Filazi, A. (2019), Nitrosamines, Their Chemistries and Effects on Health, International Journal of Scientific and Technological Research, 5, 124-133.

Özcan, E., Özdemir, A., Çanakçı, C. (2011), Periodontal Doku Yıkımında Reaktif Oksijen Türlerinin Rolü, Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 21(3), 255-261.

Öztürk, M. (2018), Endüstriyel Atıksuda Siyanür ve Krom Giderimi, Çevre ve Şehircilik Bakanlığı, Ankara.

Phadtare, S., Shankarling, G. (2012), Greener coumarin synthesis by Knoevenagel condensation using biodegradable choline chloride, Environmental Chemistry Letters, 10, 363-368.

Polat, Y. (1991), Ağartma Şartlarının Özellikle Beyazlık Derecesi ve Kopma Direnci Göz Önüne Alınarak Optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ponzano, G. P. (2007), Sodium Hypochlorite: History, Properties, Electrochemical Production, *Disinfection by Sodium Hypochlorite: Dialysis Applications*, 154, 7-23.

Sarı, E. (2022), Hareketli Protez Kullanan Yaşlı Hastaların; Protez Bakımı ve Hijyeni Hakkındaki Bilgi ve Birikimlerinin Değerlendirilmesi, Bitirme Tezi, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi.

Sezigen, S., Sarper, M. (2019), Klora Maruz Kalan A549 Hücre Hattında Çeşitli Antioksidanların Etkileri, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 10(3), 309-313.

Shangguan, M., Jiang, X., Lu, Z., Zou, W., Chen, Y., Xu, P., Pan, Y., Hou, L. (2019), A coumarin-based fluorescent probe for hypochlorite ion detection in environmental water samples and living cells, *Talanta*, 202, 303-307.

Slaughter, R., Watts, M., Vale, J., Grieve, J., Schep, L. (2018), The Clinical Toxicology of Sodium Hypochlorite, *Clinical Toxicology*, 303-311.

Starzak, K., Matwijczuk, A., Creaven, B., Matwijczuk, A., Wybraniec, S., Karcz, D. (2019), Fluorescence Quenching-Based Mechanism for Determination of Hypochlorite by Coumarin-Derived Sensors, *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 281-298.

Şahin, B. (2021), Kırmızı ve Kızılötesi Işığın Hipokloröz Asit Kombine Uygulamalarının ile Keratinosit (HACAT) ve Fibroblast Hücre Hattı (Human Dermal Fibroblast HDFA) Üzerinde Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Şener, B., Mutlugil, A. (1987), Doğal Kumarinler, Kimyasal Yapıları ve Biyolojik Aktiviteleri, FABAD Farmasötik Bilimler Dergisi, 12, 99-114.

Tang, Y., Li, Y., Han, J., Mao, Y., Ni, L., Wang, Y. (2019), A coumarin based fluorescent probe for rapidly distinguishing of hypochlorite and copper (II) ion in organisms, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 208, 299-308.

Taşkıran, D. (2010), Kumarin Türevlerinin Sentezleri, Karakterizasyonları ve Sensör Uygulamaları, Doktora Tezi, İzmir, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Taştemel, A. (2013), 7-Oksi-3-(m-Metoksifenil) Kumarin içeren Metalli ve Metalsiz Ftalosiyaninlerin Sentezi Karakterizasyonu Fotofiziksel ve Fotokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Vardar, C. (2009), Çileğin Hasat Sonrası Hastalıklarına Karşı Çeşitli Kimyasal Maddelerin Sisleme Yöntemi ile Uygulanması, Yüksek Lisans Tezi, Bursa, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Wang, L., Li, W., Zhi, W., Ye, D., Zhang, W., Ni, L. (2018), Rapid detection of hypochlorite by a coumarin-based hydrazide in aqueous solution and its application in live-cell imaging, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 1112-1118.

Wang, Q., Jin, L., Wang, W., Dai, L., Tan, X., Zhao, C. (2019), Two coumarin-based turn-on fluorescent probes based on for hypochlorous acid detection and imaging in living cells, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 211, 239-245.

Wu, D., Chen, L., Xu, Q., Chen, X., Yoon, J. (2019), Design Principles, Sensing Mechanisms, and Applications of Highly Specific Fluorescent Probes for HOCl/OCl^-, *American Chemical Society*, 52, 2158-2168.

Xie, Y., Zhou, C., Zhang, S., Yan, L., Wu, X., Shan, Y. (2019), A Coumarin-Based Fluorescent Probe for the Detection of Hypochlorite Ions and Its Applications in Test Paper and Cell Imaging, Chemistry Select, 5, 9240-9244.

Xiong, K., Huo, F., Yin, C., Chao, J., Zhang, Y., Xu, M. (2015), A highly selective fluorescent bioimaging probe for hypochlorite based on 1,8-naphthalimide derivative, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221, 1508-1514.

Yan, L., Hu, C., Li, J. (2018), A fluorescence turn-on probe for rapid monitoring of hypochlorite based on coumarin Schiff base, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 7457-7464.

Yang, X., Jin, L., Chen, Y., Zhong, X., Jiang, Y., Dai, Z. (2021), A novel aggregation induced emission probe based on coumarin scaffold for imaging hypochlorite in cells and zebrafish, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 419.

Yang, X., Shi, W., Dong, X., Cui, C., Huang, X., Wang, X., Xie, H., Li, Y., Yan, M., Cui, Y., Sun, G. (2020), A simple but sensitive and efficient fluorescent probe for “turn-on” sensing of ClO^-, *Polyhedron*, 185.

Yiğit, Z. (2008), Fotokatalitik Arıtmanın Doğal Organik Madde Karakterizasyonu Ve Dezenfeksiyon Yan Ürünlerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Zhang, Y., Chen, X., Shao, J., Zhang, J., Yuan, Q., Miao, J., Zhao, B. (2014), A ratiometric fluorescent probe for sensing HOCl based on a coumarin–rhodamine dyad, Chemical Communications, 91.

Zhao, Y., Li, H., Xue, Y., Ren, Y., Han, T. (2017), A phenanthroimidazole-based fluorescent probe for hypochlorous acid with high selectivity and its bio-imaging in living cells, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 241, 335-341.

Zhu, B., Wu, L., Zhang, M., Wang, Y., Liu, C., Wang, Z., Duan, Q., Jia, P. (2018), A highly specific and ultrasensitive near-infrared fluorescent probe for imaging basal hypochlorite in the mitochondria of living cells, *Biosensors and Bioelectronics*, 107, 218-223.

Zhu, J., Wong, K. (2018), Dual-responsive fluorescent probe for hypochlorite via pH-modulated, ring-opening reactions of a coumarin-fused rhodol derivative, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 267, 208-215.

Zhu, Y., Wang, K., Wu, X., Sun, Y., Gong, X., Cao, D., Guan, R., Liu, Z. (2020), A highly sensitive turn-on fluorescent probe for real-time detecting hypochlorite and its application in living cells, *Talanta*, 209.

ÖZGEÇMİŞ

…….. tarihinde …..…’da doğdum. Lise öğrenimimi Yedikule Anadolu Lisesi’nde tamamladım. 2017 yılında girdiğim Marmara Üniversitesi Atatürk Eğitim Fakültesi, Kimya Öğretmenliği bölümünden 2021 yılında mezun oldum. 2021 güz döneminde Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı, Analitik Kimya bölümünde yüksek lisans öğrenimime başladım.

Burcu ALTAŞ