

13280.

KİMYASAL VE BİYOLOJİK ORTAMLARDAKİ KLORÜR
İYONU TAYİNİ İÇİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI

Kim. Müh. Göksel ALTIOKKA

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Analitik Kimya Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

Danışman : Prof. Dr. Muzaffer TUNÇEL

Ağustos 1990

Göksel ALTIOKKA'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "KİMYASAL VE BİYOLOJİK ORTAMLARDAKİ KLORÜR İYONU TAYİNİ İÇİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERİN KARŞILAŞTIRILMASI" başlıklı bu çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

14.08.1990

Üye: Prof.Dr. Muzaffer TUNCEL (imza)

Üye: Prof.Dr. Erden GÜLER (imza)

Üye: Yrd Doç.Dr. Nese KIRIMER (imza)

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03.09.1990. gün ve 146/349... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

(imza)

Enstitü Müdürü

Prof.Dr. Nurettin BASARAN



ÖZET

Bu çalışmada, insan organizmasındaki sıvılarda duyarlı klorür tayini amacıyla klorür tayin yöntemleri analitik açıdan gözden geçirilmiştir. İncelenen yöntemler arasında volumetrik olanların duyarlık açısından iyi sonuç verdiği fakat çok miktarda numuneye ihtiyaç gösterdiği, atomik absorpsiyonla indirek klorür tayininin duyarlı fakat uzun zaman aldığı bulunmuştur.

$\text{Hg}(\text{SCN})_2$ deki Hg^{++} iyonu ile bileşik yaparak SCN^- iyonlarının açığa çıkması ve SCN^- iyonlarının spektrofotometrik tayinine dayalı klorür tayin yöntemi ile en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bu yöntemin incelenen yöntemler arasında duyarlık açısından diğerlerine denk, süre olarak onlardan kısa, çok numunenin analizinde kullanılacak ve kit haline getirilmeye elverişli, az miktar numunede analiz yapmaya olanak veren bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler : Klorür iyonu tayin yöntemleri, kimyasal maddelerde klorür tayinleri, vücut sıvılarında klorür tayinleri

SUMMARY

In this study, the determination of the sensitive chloride ion within the fluid of the human organism was investigated. For this purpose, analytical methods to determine chloride were reviewed. It was found that volumetric methods have a great sensitivity in the determination of chloride but they need large amount of samples. On the other hand, it was observed that indirect method for the determination of chloride using atomic absorption is also very sensitive but it takes longer time.

Chloride ion reacts with Hg^{++} cation within the $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ and freed SCN^- anion was determined using spectrophotometric method. Depending on this indirect method, the best results were obtained in the determination of chloride. It was concluded that this method is as sensitive as those which investigated before. On the other hand it is preferable to the others on the ground of needing short time and less samples. It was also found that this method is suitable for the different type of samples and convenient to form a set of equipment.

Key words : The determination methods of chloride ion,
Chloride determination in chemicals, Chloride
determinations in body fluids

TEŞEKKÜR

Çalışmalarında gösterdiği yardımlardan dolayı Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. İhsan Sarıkardaşoğlu'na

Çalışmalarım sürecinde bıkıp usanmadan beni yönlendiren, anlayış, yakın ilgi ve hoşgörüsüyle çalışmalarımın her aşamasında değerli bilgileriyle bitimsiz katkıda bulunan, Sayın Hocam Prof. Dr. Muzaffer Tunçel'e,

Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi'nin olanaklarından yararlanmamı sağlayan Sayın Prof.Dr. K. Hüsnü Can Başer'e,

Fen Edebiyat Fakültesinin olanaklarından yararlanmamı sağlayan, değerli bilgileriyle birçok konuda çalışmalarına katkıda bulunan Sayın Yard. Doç. Dr. Gözen Bereket'e,

Yardım ve destekleriyle çalışmalarına büyük ölçüde destek veren Analitik Kimya Anabilim Dalı çalışma arkadaşlarıma,

Büyük bir anlayışla birlikte, her zaman manevi desteğini eksik etmeyen eşim Mehmet Rıza Altıokka'ya
Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	2
2.1. Klorürün Bulunuşu	2
2.2. Klorürün Farmakolojik Özellikleri	2
2.3. Klorürün Miktar Tayini Yöntemleri	3
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER	8
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	8
3.2. Kullanılan Aletler	9
3.3. Yapılan Miktar Tayini Yöntemleri	9
3.3.1. UV Spektrofotometrik Yöntem	9
3.3.2. Atomik Absorpsiyon Yöntemi	14
3.3.3. Civa Nitratla Titrimetrik Tayin	18
3.3.4. Civa Nitratla Alkollü Ortamda Titrimetrik Tayin	20
3.3.5. Gümüş Nitratla Klorür İyonlarının Tayini	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	29
KAYNAKLAR DİZİNİ	30
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. 2.8×10^{-3} M derişimli NaCl çözeltisinin gerekli işlemlerden sonra kaydedilen spektrumu	11
3.2. Doygun Hg(SCN) ₂ den açığa çıkan SCN ⁻ iyonlarının renklendirilmesine dayalı kalibrasyon eğrileri	12
3.3. Standart NaCl çözeltilerine karşı okunan absorbans değerleri	16



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Klorür konsantrasyonlarına karşılık okunan absorbanans değerleri	10
3.2. Serum numunelerinde bulunan klorür miktarları	13
3.3. İdrar numunelerinde bulunan klorür miktarları	14
3.4. Standart NaCl çözeltileri için okunan absorbanans ve buna bağlı olarak bulunan ortalama değerler	16
3.5. Serumda bulunan klorür iyonlarına karşı okunan absorbanans değerleri	17
3.6. İdrarda bulunan klorür iyonlarına karşı okunan absorbanans değerleri	18
3.7. Sulu ortamda $Hg(NO_3)_2$ ile standart NaCl tayini sonuçları	19
3.8. Sulu $Hg(NO_3)_2$ ile serumdaki Cl^- tayini sonuçları	19
3.9. Sulu $Hg(NO_3)_2$ ile idrardaki Cl^- tayini sonuçları	20
3.10. Alkollü ortamda $Hg(NO_3)_2$ ile standart NaCl tayini sonuçları	21
3.11. Alkollü ortamda $Hg(NO_3)_2$ ile serumdaki Cl^- tayini sonuçları	21
3.12. Alkollü ortamda $Hg(NO_3)_2$ ile idrardaki Cl^- tayini sonuçları	22
3.13. Standart NaCl çözeltisi için sarfedilen $AgNO_3$ ve bulunan klorür derişimleri	23
3.14. Gümüş nitrat ile serumdaki klorür tayini sonuçları	24
3.15. Gümüş nitrat ile idrardaki klorür tayini sonuçları	24
4.1. Volumetrik yöntemlerle ortalama klorür miktarları	25
4.2. Volumetrik yöntemlerle serum ve idrardaki ortalama klorür miktarları	26

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klorür iyonu; halojenler grubuna dahil olan klorun anyonu olup doğada en bol sodyumla olmak üzere birçok maddeyle bileşikler yapan, canlı ve cansız birçok maddenin yapısında bulunan, canlı organizmalarının temel yapı taşlarından (19).

Klorür iyonu canlı organizmasındaki elektriksel nötralleşmeyi sağlamada karşıt iyon olarak işlevi olan, organizmanın önemli maddelerinden biridir (16).

Klorür'ün dokularda ve vücut sıvılarında dağılımı organizmada bulunan diğer anyonlar ve proteinlerin denetimi altında olmaktadır ve büyük oranı mide salgısı içerisinde klorik asit şeklindedir. Organizmaya girişi birçok elektrolitte olduğu gibi sindirim salgılarıyla birlikte barsaklardan emilerek olmaktadır. Absorbe edilen klorür iyonu barsak-plazma dolaşımına geçmektedir ve böylece iyon dengesinin kurulması ve sağlanmasında önemli görevler almaktadır (20).

Bu araştırmanın amacı, kan idrar gibi biyolojik sıvılarda duyarlı klorür tayinine yöneliktir. Bilindiği gibi biyolojik sıvılar birçok madde içermektedir. Klorür'ün beraberce bulunduğu bu maddelerin tayinleri bozacağı, karışıklığa neden olarak tayin duyarlılığını azaltacağı düşünülebilir. Bu nedenle önce klorür tayininde kullanılan yöntemlerin uygulanabilirlikleri çeşitli açılardan gözden geçirilmiş, duyarlılıkları incelenmiştir. Klorür tayinlerinde en çok kullanılan spektrofotometrik, gümüş nitrat ile titrasyon, civa nitrat ile alkollü ve alkolsüz ortamda titrasyon ve klorür içeren örnek üzerine aşırı gümüş nitrat katıldıktan sonra gümüşün aşırısının atomik absorpsiyonla tayinine dayalı yöntemlerin sonuçları karşılaştırılmış, daha sonra adı geçen yöntemler serum ve idrardaki tayinlerde kullanılmıştır. Sonuçlar tekraredilebilirlik, duyarlılık çabukluk ve basitlik açısından değerlendirilmiştir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Klorür'ün Bulunuşu

Klorür doğada daima bileşikler halinde veya moleküllerin yapısında bulunur. Daha doğrusu klor molekülünün iyonlaşmış şeklidir. En önemli bileşiği kaya tuzu olarak bilinen sodyum klorür'dür. Klorür bir anyon olduğuna göre birçok katyonla birlikte bulunabilir. Bu nedenle herbirisiyle yapmış olduğu bileşiğin özellikleri farklıdır.

2.2. Klorür'ün Farmakolojik Özellikleri

Klorür'ün büyük bir kısmı mide salgısı içinde (mide öz suyunda) % 0.4 oranında bulunmaktadır. Birçok elektrolitte olduğu gibi sindirim salgılarıyla salgılanıp barsaklardan emilerek bir barsak plazma dolaşımı oluşturur. Genellikle, zehirleyici etkisi yoktur. Sodyum klorür paranteral verilecek olursa diüretik etki gösterir, ağızdan verildiğinde etkisizdir. İzotonik çözelti halinde ve uygun miktarda intravenöz verilen sodyum klorür kan hacmini ve glomerül filtratını artırmak suretiyle diüretik etki gösterir. Potasyum tuzları sodyum tuzlarından daha kuvvetli diüretik etkiye sahiptirler ve ağız yoluyla da etkilidirler. Amaca bağlı olarak, sağaltımda sodyum ve potasyum klorürleri sıklıkla kullanılmaktadır.

Serum ve plazmada klorür miktarının artışı aşırı tuz alımına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Akut böbrek yetmezliği, nefrit, böbrek üstü korteks yetmezliği, adrenokortikal fonksiyon azalışı ve salisilat zehirlenmesi gibi olgularda metabolik asidoz ile sonuçlanan, bunlara bağlı olarak klorür alıkonması görülür.

Azalma durumlarını aşırı terleme, kusma ve diürece bağlamak mümkündür. Bunlara ek olarak, gebelik toksikozu böbrek üstü korteksinin hiperfonksiyonu ve uygunsuz diüretik kullanımında da klorür düzeyi kanda azalma gösterir.

2.3. Klorür'ün Miktar Tayini Yöntemleri

Bartels (1) atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile serumda bulunan klorür'ün gümüş iyonu ile çöktürülmesine dayanan bir tayin yöntemi geliştirmiştir. Bu yöntemin esasının çöktürme işleminden sonra santrifüj edilen ve çökeleğin üzerinde kalan çözelti içindeki reaksiyona girmemiş gümüş miktarı, buna bağlı olarak klorür derişiminin hesaplanmasına dayandığı gösterilmiştir. Çöktürücü olarak 0.1 N gümüş nitrat, standart olarak 1 N sodyum klorür çözeltisi kullanılarak sodyum klorür'ün 90, 100, 110, 120 miliekivalent klorür içeren çözeltilerini hazırlamışlardır. Daha sonra 0.5 ml serum veya standardını çöktürücü çözeltisi ile birlikte seyreltmışler, absorpsiyonlarını ölçmüşlerdir. 828 dolayında klorür tayini yapmışlar ve maksimum farkı % 1.08 olarak bulmuşlardır.

Belcher ve arkadaşları (3) Mohr yöntemini kullanarak klorür'ün başka iyonlarla birlikte bulunduğu durumdaki tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bunun için dört ayrı yöntemi karşılaştırmışlardır. Bu yöntemlerden ilkinde 75 ml suya 1 ml 0.52 N potasyum kromat ilave edilmiş ve gümüş nitrat çözeltisi ile titre edilmiştir. İkinci yöntemde birinci yöntem gibi yapılmış ancak gümüş nitrat ile titre işlemi yapılmadan önce 0.26 ml kalsiyum karbonat çözeltisi katılmıştır. Üçüncü yöntemde de birinci yöntemdeki yol izlenmiş gümüş nitrat ile titre edilmeden önce 0.35 gram yıkanmış gümüş klorür ilave edilmiştir. Dördüncü yöntemde klorür içeren çözelti ilk renk değişimi görülünceye kadar gümüş nitrat ile titre edilmiş daha sonra 0.01 N sodyum klorür çözeltisi ile başlangıçtaki rengine dönünceye kadar geri titre edilmiştir. Bu dört yöntemin karşılaştırılması sonucunda pH değerinin kontrol edilebilmesi için indikatörün nötürleştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Klorür'ün fosfat, oksalat, arsenat, florür demir ve aliminyumun yanında tayini söz konusu olduğunda fosfat, oksalat ve arsenatın etkilerinin çok az ol-

duğu, florür'ün etkisiz kaldığı, oksalat'ın ise kalsiyum oksalat halinde çöktürülerek etkisiz bırakıldığı vurgulanmıştır. Bu dört yöntemin içinde en iyi sonucu kalsiyum karbonat süspansiyonu eklenmesiyle gerçekleştirilenin verdiği belirtilmiştir. Titre edilecek klorür miktarınının 0.1 gramdan az veya çok olması durumunda kalsiyum karbonatın buna bağlı olarak aynı oranda değiştiği gözlenmiştir. Sonucu % 4 hata ile belirlemenin olası olduğu belirtilmektedir.

Berry ve Driver (4) indikatör olarak kullanılan potasyum kromat beraberliğinde gümüş nitrat ile klorür tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu yöntemle; amonyum klorür ve hidroklorik asitteki klorür'ü tayin ettiklerini, ortamın pH'ının bulunan klorür miktarı üzerine çok etkili olduğunu belirtmektedirler. Deney sürecinde aşağıda verilen yolu izlemişlerdir. Önce analiz edilecek örneğin sulu çözeltisi alınmış, ortamın pH'ı 7 dolayına getirilmiş, dönüm noktasının belirlenmesine yardımcı olan potasyum kromat katıldıktan sonra standart 0.05 N gümüş nitratla titre edilmiştir. Çalışmada, bulunan miktar pH'ın bir fonksiyonu olarak incelenmiştir. En iyi sonuçların nötral ortamda alındığı, karşılaştırma yöntemleri ile bulunan sonuçlar arasında % 0.1 farkın bulunduğu belirtilmektedir.

Brown ve Parker (5) iyon selektif elektrot kullanarak derişik sülfürik asit içerisindeki klorür'ün tayinini gerçekleştirmişlerdir. Standart olarak 0.028 N sodyum klorür çözeltisi kullanılmış ve bu yöntemle % 94-98 saflıkta sülfürik asit içerisindeki klorür miktarını saptamışlardır. Bilinen klorür konsantrasyonları ile elde edilen kalibrasyon grafiği ve standart katma yöntemi kullanarak, potansiyel okumalarında elde edilen verileri karşılaştırarak değerlendirme işlemini yapmışlardır. Çalışmalar sonucunda en düşük düzeyde klorür saptanma limiti olarak 0.1 µg/ml bulunmuştur.

Buchholz ve arkadaşları (6) iyon kromatografisi kullanarak klor, nitrat ve sülfat iyonlarının analizini gerçekleştirmişlerdir. Daha önceki çalışmalarda limit olarak bulunan 0.5 ppm klorür, 1.25 ppm nitrat ve 1.25 ppm sülfat'dan daha az konsantrasyonlarda çalışmanın mümkün olabileceğini yaptıkları yöntemde ispatlamışlardır. Bu yöntemde 25 dakikadan az bir sürede klorür, nitrat ve sülfat anyonlarının tayinini aynı anda oldukça hızlı bir şekilde gerçekleştirmeyi başarmışlardır. Ayrıca klorür saptama limitini 1.46 ppm, standart sapmayı ise 0.03-0.01 ppm arasında bulmuşlardır.

Carel ve Whitaker (7) ham yağların nafta fraksiyonundaki organik klorür ölçümü için kolorimetrik tiyosiyanat metodunu geliştirmişlerdir. Ham yağın distilasyonu, suyla yıkanması ve filtrasyonu, sodyum bifenil ile reaksiyonu, asit ekstraksiyonu, sülfitten arındırma ve tiyosiyanat çözeltisi ile rengin belirginleştirilmesinden sonra 460 nm'de standart klorür eğrisine karşı absorban ölçümü yapmışlardır. Ölçümlerin duyarlılığını 1-100 ppm arasında bulmuşlardır. Analiz ettikleri 5 nafta örneğinde klorür saptama limiti 1-10 ppm arasındadır. Yine bu örneklerin analizi sonucunda standart sapma 4 ppm olarak bulunmuştur.

Dessouky ve arkadaşları (8) iyon selektif membran elektrotları farmasötik analizlere uygulayarak yirmidört tane halojenli farmasötik bileşiğin hem direk hemde indirek yöntemle tayin edilebileceğini göstermişlerdir. Böyle bir çalışmada aktiflik katsayısının etkisini yok etmek için ya seyreltik çözeltilerle yada iyon şiddeti sabit bir değere ayarlanmış çözeltilerle çalışmak gerektiğini savunmuşlardır. Bu nedenle standart halojenür çözeltileri yardımıyla kalibrasyon grafiğini çizerek çözeltinin iyonik kuvvetini sodyum nitrat ile 0.1'e ayarlayarak sonuçları değerlendirilmişlerdir. Kullanılan çözeltinin nötralizasyonu için 2 N nitrik asit, indikatör olarakda metil kırmızısı

kullanılmıştır. Direk yöntemle yapılan çalışmada; klorür saptanma limitini 1.72-4.02 arasında, standart saptamayıda % 0.56 dolayında bulmuşlardır.

Gaffney ve Cooke (10) YBSK ile iyon değiştirici kolon kullanarak çeşme suyu, birikinti su ve nehir suyu gibi örneklerde fosfat, klorür, nitrat ve sülfat iyonlarının tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Gerçekleştirilen tayinlerde UV detektör kullanmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda kuvvetli ultraviole absorplayan örneklerin analizinin pek çok problem yaratabileceği vurgulanmıştır. Bu problemlerin ortadan kaldırılabilmesi için indirek ultraviole yöntemi uygulanmış ve sonuçta klorürün saptanma limiti 20 µg/ml olarak bulunmuştur.

Gambrel (11) atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile klorür iyonlarının indirek yolla tayinini gerçekleştirmişlerdir. İşlemler süresince aletin kalibrasyonunu yapabilmek için 0.011 N dolayında gümüş nitrat standart çözeltisi kullanılmıştır. Ayrıca, kalibrasyon eğrisini çizebilmek için standart 0.4 N sodyum klorür çözeltisi kullanılmış, absorbans değerlerinin okunması 338.3 nm'de gümüş lambası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda litrede 90-120 miliekivalent klorür saptandığı ifade edilmiştir.

Hara ve Okazaki (14) göl ve akarsulardaki klorür iyonunun herhangi bir ön işleme tutulmaksızın basit ve çabuk miktar tayinini selektif elektrotları kullanarak potansiyometrik yöntemle gerçekleştirmişlerdir. Potansiyometrik verileri Gran yöntemi ile değerlendirerek sonuçta ulaşmışlardır. Geliştirdikleri yöntemi spektrofotometrik yöntemle karşılaştırmışlardır. Potansiyometrik ve spektrofotometrik sonuçlar arasında iyi bir korelasyon olduğunu, yapılan çalışmalar sonucunda 5 mg/L'nin altındaki klorür örnekleri için oldukça iyi sonuçlar alındığını göstermişler ve klorür saptanma limitinin litrede 3.5 miligramın altında olduğunu bulmuşlardır.

Moss ve Stephen (15) inorganik halojenlerin kantitatif olarak tayinine dayanan bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemle sulu çözeltilerde klorür, bromür ve iyodür'ün aynı anda tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bunun için oda sıcaklığında oldukça hızlı tamamlanan aril boronik asit yöntemini kendi çalışmalarına uygulayarak kovalent bağlı aril civa(II) tayinini gerçekleştirmişlerdir. Tayin limiti olarak 0-100 µg/ml belirlenmiş, klorür için % 100 e varan oranda tekraredilebilirlik bulunmuştur.

Smith (18) sulu çözeltilerdeki anyonların ppm düzeyindeki analizini gerçekleştirmek için iyon kromatografisi yöntemini kullanmıştır. Bu çalışmada; çok yüksek miktarlarda hidroksil ve sülfat varlığında klorür iyonunun davranışları incelenmiş, birden fazla anyonun pik yüksekliğine bağlı olarak tayin edilmeleri amaçlanmıştır. Tayini yapılacak klorür konsantrasyonunun, birlikte bulunduğu diğer herbir anyonun pik yüksekliğine bağlı olduğu saptanmış ve 100 ppm sülfat iyonunun 8000 ppm dolayında klorür iyonu konsantrasyonu tarafından etkilenebildiği gösterilmiştir. Sodyum klorürdeki klorür iyonunun saptanma limiti olarak 0.1 ppm bulunmuştur.

Wang ve arkadaşları (21) iyon kromatografisini kullanarak ppm ve ppm'den daha az miktarlardaki inorganik anyonların tayini için bir yöntem geliştirmişlerdir. Kondüktometrik saptamalar ile iyon kromatografisinin uygulama ve sınırlamalarını belirleyerek klorür, bromür, iyodür, siyanür ve tiyosiyanat iyonlarının farklı olarak seçilmiş potansiyellerde tayin edilebilirliği gösterilmiştir. İletkenlik detektörüyle saptanmış klorür tayin limiti 3 ppm olarak bulunmuştur.

Williams (23) inorganik anyonların miktar tayinini gerçekleştirebilmek için ultraviyole absorpsiyon detektörlü iyon kromatografisi yöntemini kullanmıştır. Yöntemin temelini düşük kapasiteli iyon değiştirici kolonda ilgili

iyonun ayrılması ilkesine dayandığı gösterilmiştir. Bu yöntemle 190-220 nm'de pekçok absorpsiyon yapan anyonların sadece spektrofotometreyle yapılan yöntemle oranla çok daha belirgin ve iyi sonuç verdiği ispatlanmıştır. Yapılan çalışmada klorür iyonunun 200 nm' nin altında zayıf absorpsiyon verdiği ve klorür saptanma limitinin 2 ppm olduğu gösterilmiştir.

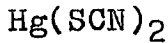
Zsigray ve Bartusz (24) kulometrik ve termometrik çöktürme titrasyonları kullanarak ergimiş kalsiyum nitrat tetrahidrattaki klorür, bromür ve iyodür iyonlarının tayinini gerçekleştirmişlerdir. Titrasyon boyunca sıcaklık değişimlerini bir kaydediciyle gözleyerek, akım geçişinin sıcaklık etkisini azaltmak için, biri anodik diğeri katodik olmak üzere hücre kompartmanları ile karşılıklı iki termistörün birleştirilmesi gerektiğini savunmuşlardır. Halojenlerin 62-80 µmol miktarlarının % 0.4'ün altında bağıl hata, % 2.7'den az relatif standart sapma ile tayin edilebileceğini göstermişlerdir.

3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deney süresince kullanılan kimyasal maddelerin hepsi E. Merck firmasının (F.Almanya) üretimidir. Çalışmalarda iki kez distillenmiş su kullanılmıştır. Kullanılan diğer kimyasal maddeler aşağıdadır.

Sodyum klorür
Demir (III) nitrat
Potasyum kromat
Gümüş nitrat
Civa (II) nitrat
Nitrik asit
Difenil karbazon
Etanol
Bromfenol mavisi



$\text{Hg}(\text{SCN})_2$ 'nin elde edilişi:

$\text{Hg}(\text{SCN})_2$ elde etmek için 20 gram dolayında $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ alındı distile su ile çözüldü. Üzerine çökme tamamlanmaya kadar KSCN ilave edildi.

Oluşan çökelti G4 cam krozedden süzüldü. Yıkama sularında NO_3^- ve K^+ iyonları görülmeyene dek yıkandı, kurutuldu ve desikatörde saklandı. Reaksiyon denklemi aşağıda verilmiştir.



3.2. Kullanılan Aletler

Deneyler sürecinde UV-görünür alan spektrofotometre-240 model Graphicord (Shimadzu) ve kaydedicisi Graphic Printer Pr-1 (Shimadzu),

Atomik absorpsiyon spektrofotometre, 180-70 Zeeman (Hitachi), Ag katot lambası (Hitachi),

10 ve 50 ml'lik kalibreli büretler, 0.1-10 ml arası kalibreli pipetler kullanılmıştır.

3.3. Yapılan Miktar Tayin Yöntemleri

Çalışmada serum ve idrar içerisindeki klorür miktarını belirleyebilmek için, UV spektrofotometrik yöntem, atomik absorpsiyon spektrofotometrik yöntem, civa nitratla sulu ve alkollü ortamda titrimetrik tayin, gümüş nitratla titrimetrik tayin yapılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır.

3.3.1. UV Spektrofotometrik Yöntem

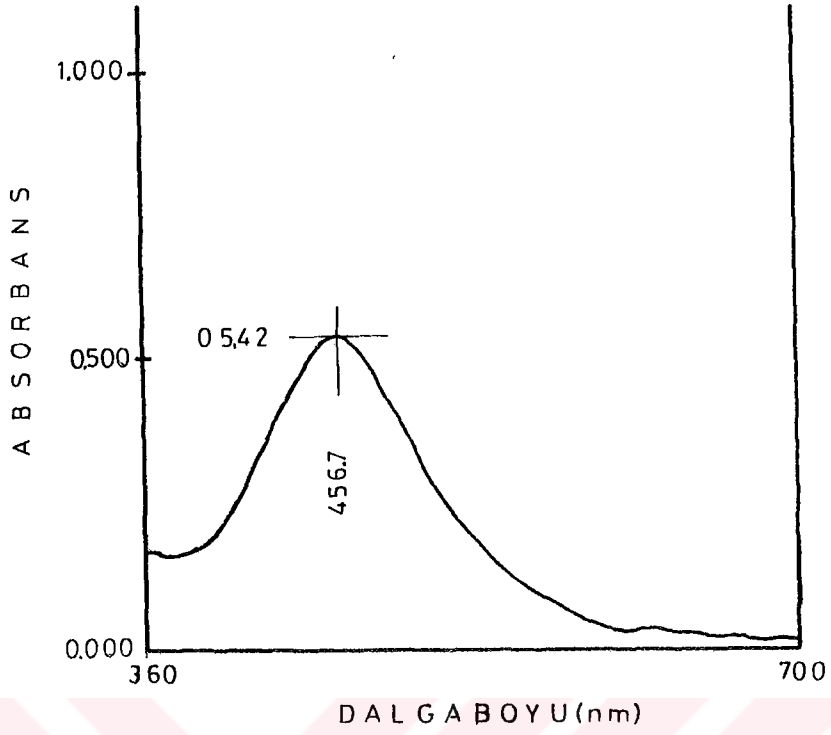
Bu yöntemde standart eğrinin çizilebilmesi için, 8×10^{-3} N'lik NaCl çözeltisi hazırlanmış, bu çözeltiden tüplere 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 ve 4 ml alınmış, $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ nin doymuş çözeltisinden her bir tüpe 5'er ml konulup iyice çalkalanmıştır. Açığa çıkan SCN^- iyonunun renk vermesi

için 1'er ml 0.1 ml 0.1 N $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ilavesinden sonra hacimler su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Yapılan seyrelmelerde kullanılan çözeltiler ve miktarları Çizelge 3.1 de verilmektedir.

Çizelge 3.1 Klorür konsantrasyonlarına karşılık okunan absorbens değerleri

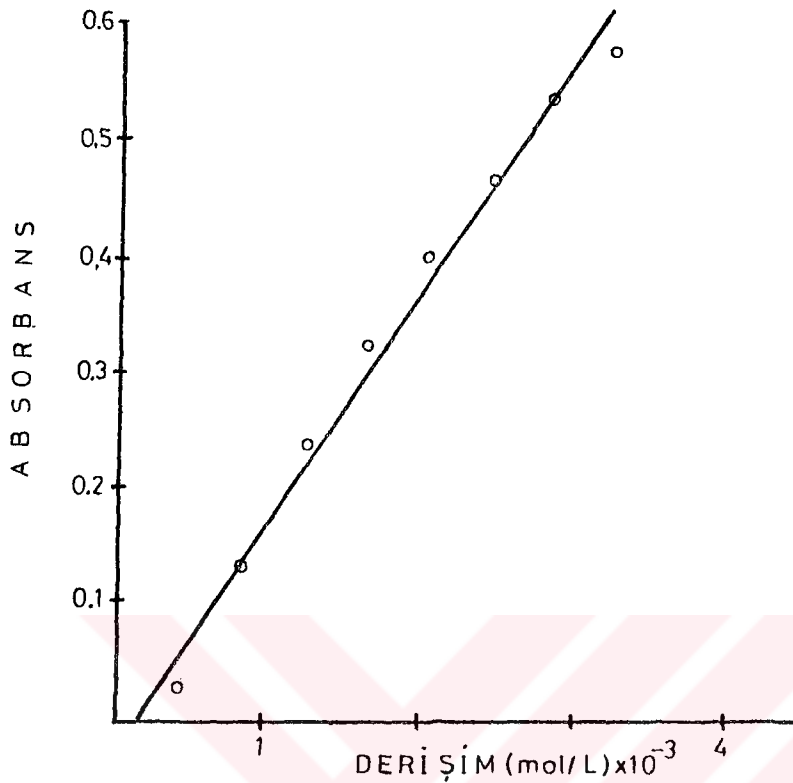
NaCl (ml)	Cl^- konsantrasyonu	Absorbans
0.5	0.4×10^{-3}	0.012
1.0	0.8×10^{-3}	0.125
1.5	1.2×10^{-3}	0.231
2.0	1.6×10^{-3}	0.318
2.5	2.0×10^{-3}	0.390
3.0	2.4×10^{-3}	0.458
3.5	2.8×10^{-3}	0.542
4.0	3.2×10^{-3}	0.568

Hazırlanan çözeltilerden 2.8×10^{-3} M derişimine sahip NaCl standardının yukarıda belirtilen işlemlerden sonra 360-700 nm'ler arasındaki UV spektrumu kaydedilmiştir. Spektrumdan da görüldüğü gibi oluşan kan kırmızı rengin ışığı 456.7 nm'de en yüksek absorbe ettiği bulunmuştur. Belirtilen dalgaboyunda bu çözeltinin absorbensı 0.542 olarak okunmuştur. Buna göre oluşan kompleksin molar ekstinksiyon katsayısı 193.5 olarak hesaplanmıştır. 2.8×10^{-3} M derişimli çözeltinin gerekli işlemlerden sonra elde edilen spektrumu Şekil 3.1 de verilmiştir.



Şekil 3.1 2.8×10^{-3} M derişimli NaCl çözeltisi-
nin gerekli işlemlerden sonra kaydedi-
len spektrumu

Çizelge 3.1'deki derişimlere sahip NaCl çözeltile-
rinden hareketle, işlemler bölümünde anlatıldığı gibi ha-
zırlanan standartların 456.7 nm'deki absorbansları okun-
muştur. Derişime karşı absorbans değerlerinin oluşturdu-
ğu ilişki Şekil 3.2'de gösterilmektedir.



Şekil 3.2 Doygun $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ den açığa çıkan SCN^- iyonlarının renklendirilmesine dayalı kalibrasyon eğrisi

Şekil 3.2 deki noktaların ilişkisi regresyon analizi ile incelendiğinde 0.9971 korrelasyon katsayısına sahip

$$A = 202.7 C(\text{mol/L}) - 0.0209$$

denklemini bulunur. Bu grafikte 1 ve 8 numaralı standart çözeltilerin absorbanlarının saptığı görülmektedir. Bu nedenle, bu yöntemle klorür miktar tayinleri 0.8×10^{-3} ile 2.8×10^{-3} M aralığında klorür derişimine sahip çözeltilerde doğru sonuç verebileceği kanısına varılmaktadır. Kalibrasyon grafiğinin hazırlanışında 1 ve 8 nolu standart NaCl çözeltilerinin derişim-absorbans ilişkileri, kalibrasyon denklemi hesaplamalarında kullanılmıştır. Bu ilişkinin bulunmasında üç ayrı deneyin ortalamaları alınmıştır.

Bu çalışmada, üzerinde çalışılan spektrofotometrik yöntem kullanılarak serum ve idrarda klorür tayinleri ger-

çekleştirilmiştir. (Analitik açıdan duyarlık, istatistiksel değerlendirme ve tekraredilebilirlik gibi değerlendirmelerin incelenebilmesi için hastahanelerden sağlanan serum ve idrarlar bir araya toplanmıştır. Böylece bireyden bireye farklılıklar ortadan kaldırılmıştır).

Yöntem seruma aşağıdaki gibi uygulanmıştır :

0.2 ml serum alınmış, üzerine 5 ml doymuş $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ çözeltisi katılmış, iyice çalkalandıktan sonra açığa çıkan SCN^- iyonlarının renk vermesi için 1 ml 0.1 M $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ilavesinden sonra hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır. Elde edilen çözeltilerin siyah bant süzgeç kağıdından süzülükten sonra 456.7 nm'de absorbanları okunmuştur. Altı deneyin sonuçları ve bu deneylerin istatistiksel değerlendirilmeleri Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Serum numunelerinde bulunan klorür miktarları

Deney No	Absorbans	Cl^- miktarı (meq/l)
I	0.346	90.50
II	0.353	92.22
III	0.361	94.20
IV	0.349	91.24
V	0.349	91.00
VI	0.350	91.49

Ortalama : 91.775

Standart sapma : 1.316

Rölatif standart sapma : % \pm 1.434

İdrardaki klorür derişimi serumdaki klorür derişiminden daha fazla olması ve duyarlı klorür tayinlerinin $0.8 \times 10^{-3} - 2.8 \times 10^{-3}$ M aralığında yapılabilmesi nedeniyle idrar örneklerinin su ile seyreltilmesi gerekmiştir.

Bunun için mililitresinde 0.05 ml idrar bulunan bir çözelti hazırlanmış ve klorür tayinleri bu çözeltilerle yapılmıştır. Bu çözeltilerden 1 ml alınmış, üzerine 5 ml doygun $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ çözeltisi katılıp hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti siyah band süzgeç kağıdından süzülmüş ve 456.7 nm'de absorbanası okunmuştur. Altı deneyin sonuçları ve bu 6 deneyin istatistiksel değerlendirmeleri Çizelge 3.3 de verilmiştir.

Çizelge 3.3 İdrar numunelerinde bulunan klorür miktarları

Deney No	Absorbans	Cl^- miktarı (meq/lt)
I	0.215	232.75
II	0.220	237.69
III	0.219	236.70
IV	0.220	237.69
V	0.223	240.65
VI	0.218	238.90

Ortalama : 237.3
 Standart sapma : 2.64
 Rölatif standart sapma : % \pm 1.115

3.3.2 Atomik Absorpsiyon Yöntemi

Bu yöntemle klorür tayininin temeli, klorür numunesi üzerine klorür iyonu ile çökelti oluşturan bir tuzun aşırısının katılması ile tuzun aşırısının bulunmasına dayanmaktadır. Tayinde kullanılan tuz çözeltisinin eşdeğer miktarının kesin olarak bilinme koşulu bulunmaktadır. İşlemler sürecinde hata olasılığı bulunduğundan, en iyi yolun standart NaCl üzerinden gidilerek bulunması olduğu söy-

lenebilir.

Bu çalışmalar şöyle yapılabilir :

Klorür iyonları ile çökelti verebilecek tuzların standart çözeltilerinin katılması ve aşırı miktarının tayini ile sonuca ulaşılmaktadır. Bunun için standart tuz çözeltisinin eşdeğer miktarının kesin olarak bilinmesi koşulu vardır. İşlemler sürecinde her bir tayinde hata olasılığı bulunduğundan en iyi yolun standart NaCl üzerinden gidilerek kalibrasyon eğrisi hazırlamanın doğru olacağı düşünülmüştür (2).

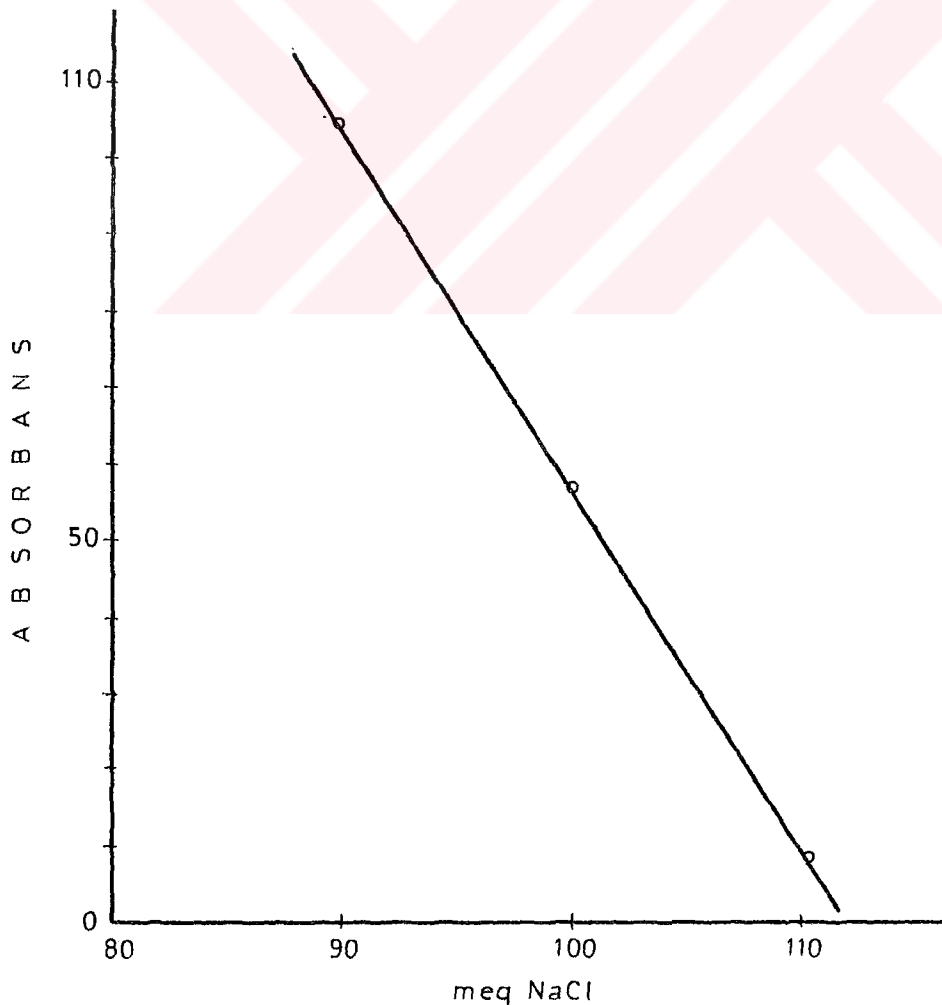
Önce stok çözeltiler hazırlanmıştır. 1 gram dolayında tam tartılan gümüş nitrat üzerine 35 ml derişik HNO_3 konulmuş ve 1 litreye tamamlanmıştır, bu çözeltinin derişimi 5.88×10^{-3} M'dır. 1 N NaCl çözeltisi ise 5.845 gram NaCl nin tartılıp 100 ml'ye tamamlanması sonucu elde edilmiştir.

Kalibrasyon eğrisinin hazırlanışında aşağıdaki yol izlenmiştir. 9, 10, 11 ml 1 N NaCl çözeltisi alınmış ve su ile 100 ml ye tamamlanmıştır. Böylece 90, 100 ve 110 meq Cl^-/L derişiminde çözeltiler elde edilmiştir. Bu üç standart çözeltinin her birinden 0.5 ml alınmış üzerine 9.5 ml 5.88×10^{-3} M AgNO_3 katılmış, 3 dakika reaksiyonun tamamlanması beklenmiş ve santrifüj edilmişlerdir. Üstteki berrak çözeltiden 90 meq Cl^-/L içeren çözelti için 1/100, 100 meq Cl^-/L içeren çözelti 1/50, 110 meq Cl^-/L içeren çözelti için 1/10, seyreltilerek atomik absorpsiyonla okumalar yapılmıştır. Çözeltilerin seyrelme oranları birbirlerinden farklı olduğundan, herbir çözelti içerisindeki gümüş miktarına karşı gelen absorbans değerlerinin bulunması gerekmektedir.(Çizelge 3.4). Düzeltilmiş değerlerin aletten alınan yanıtlarla bir ilişkisi bulunmayıp, hesaplarda kolaylık sağlayıcı amaçlarla kullanılan değerlerdir.

Çizelge 3.4 Standart NaCl çözeltileri için okunan absorbands ve buna bağlı olarak bulunan ortalama değerler

meq NaCl	Absorbans	Düzeltilmiş Değerler (ortalama)
90	0.981	104.60
90	1.111	
100	1.069	56.70
100	1.199	
110	0.880	8.490
110	0.819	

Böylece hazırlanan meq Cl^- /L çözeltileri düzeltilmiş değerler ile doğrusal bir ilişki içerisinde olmaktadır.



Şekil 3.3 Standart NaCl çözeltilerine karşı okunan absorbands değerleri

Yukarıdaki değerler kullanıldığında ;

$$y = 0.1239 C(\text{meq/L}) + 11.16$$

kalibrasyon denklemi elde edilmektedir.

Atomik absorpsiyon yöntemi ile uygun seyrelmeler yapıldıktan sonra serum ve idrar'a uygulanmış, kalibrasyon denkleminde yararlanılarak serum ve idrardaki klorür değerleri saptanmıştır.

Organizmadaki serum klorür değerleri düşük olduğundan 1/10 oranında; idrar ise 1/20 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Aynı serum ve aynı idrardan yapılan altışar ölçümün sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6 da verilmektedir.

Çizelge 3.5 Serumda bulunan klorür iyonlarına karşı okunan absorban değerleri

Deney No	Absorbans	Cl ⁻ miktarı (meq/lt)
I	8.910	93.25
II	8.900	93.20
III	8.890	93.18
IV	2.204	89.00
V	2.100	90.00
VI	2.120	89.80

Ortalama : 91.40
 Standart sapma : 2
 Rölatif standart sapma : % \pm 2.19

Çizelge 3.6 İdrarda bulunan klorür iyonlarına karşı okunan absorbens değerleri

Deney No	Absorbans	Cl ⁻ miktarı (meq/lt)
I	0.872	220
II	0.750	220
III	0.880	220
IV	0.601	220
V	0.559	212
VI	0.620	220

Ortalama : 218.6
 Standart sapma : 3.26
 Rölatif standart sapma : % \pm 1.49

3.3.3 Civa Nitratla Titrimetrik Tayin

Civa nitrat ile klorür iyonlarının titrimetrik tayininde 5.9×10^{-3} M'lık $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, dönüm noktasının belirlenebilmesi içinde difenil karbazon çözeltileri kullanılmıştır. Standart çözelti olarak 0.1 N NaCl kullanılmıştır.

Altı tane erlenin her birine 2 ml NaCl, 1 ml su ve 0.5 ml difenil karbazon çözeltileri konularak iyice çalkalanmış ve 5.9×10^{-3} N'lık $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile titre edilerek sonuçlar Çizelge 3.7 de verilmiştir.

Çizelge 3.7 Sulu ortamda $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile standart NaCl tayini sonuçları

Deney No	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ml)	Cl^- miktarı(meq/lt)
I	33.5	98.8
II	34.0	100
III	33.8	99.7
IV	33.7	99.4
V	33.8	99.7
VI	33.6	99.1

Ortalama : 99.45
 Standart sapma : 0.4415
 Rölatif standart sapma : % \pm 0.444

Daha sonra serum içerisindeki klorür iyonlarının miktarını bulabilmek için 2 ml serum 5 ml su ve 0.5 ml difenil karbazon çözeltileri iyice karıştırılarak $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile titrasyon işlemi yapılmış, sonuçlar çizelge 3.8 de verilmiştir.

Çizelge 3.8 Sulu $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile serumdaki Cl^- tayini sonuçları

Deney No	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ml)	Cl^- miktarı(meq/lt)
I	31.8	93.8
II	32.0	94.4
III	31.8	93.8
IV	31.7	93.5
V	31.9	94.1
VI	32.0	94.4

Ortalama : 94.00
 Standart sapma : 0.3633
 Rölatif standart sapma : % \pm 0.865

İdrar içerisindeki klorür miktarını bulabilmek için de 2 ml idrar alınmış, üzerine 5 ml su ve 0.5 ml difenil karbazon çözeltileri konularak iyice çalkalanmış ve $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.9 da verilmiştir.

Çizelge 3.9 Sulu $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile idrardaki Cl^- tayini sonuçları

Deney No	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ml)	Cl^- miktarı (meq/lt)
I	72.5	213.8
II	72.0	212.4
III	71.8	211.8
IV	72.2	212.9
V	72.4	213.5
VI	72.0	212.4

Ortalama : 212.8

Standart sapma : 0.750

Rölatif standart sapma : % \pm 0.352

3.3.4 Civa Nitratla Alkollü Ortamda Titrimetrik Tayin

Civa nitratla klorür iyonlarının titrimetrik tayinine dayalı bu yöntemde 9.4×10^{-3} N $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ çözeltisi, standart çözelti olarakda 0.1 N NaCl çözeltisi kullanılmıştır. Dönüm noktasının belirlenmesinde ise % 0.01'lik bromfenol mavisi ve % 0.1'lik difenil karbazon birlikte kullanılmıştır. Titrasyon sürecinde ortamı alkollü hale getirmek için % 95'lik etil alkol kullanılmıştır.

Önce 0.1 N NaCl'den 5 ml alınmış üzerine 1 ml su ve 0.1 ml bromfenol mavisi, daha sonra 0.1 N HNO_3 ilave edilmiştir. Ardından 10 ml % 95'lik etil alkol ve difenil karbazon ilave edilerek iyice karıştırılmış ve 9.4×10^{-3} N'lik $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile titre edilerek sonuçlar çizelge 3.10 da verilmiştir.

Çizelge 3.10 Alkollü ortamda $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile standart NaCl tayini sonuçları

Deney No	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ml)	Cl^- miktarı (meq/lt)
I	53.2	100.0
II	53.0	99.60
III	53.0	99.60
IV	53.2	100.0
V	53.3	100.2
VI	53.0	99.60

Ortalama : 99.83
 Standart sapma : 0.2658
 Relatif standart sapma : % \pm 0.260

Bu yöntemle serum içerisindeki klorür miktarını bulabilmek için 2 ml serum alınmış, üzerine 1 ml su ve 0.1 ml bromfenol mavisi, daha sonra 0.1 N HNO_3 ilave edilmiştir. Ardından 10 ml % 95'lik etil alkol ve difenil karbon ilave edilerek çalkalanmış ve 9.4×10^{-3} N'lık $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile titre edilerek sonuçlar Çizelge 3.11 de verilmiştir.

Çizelge 3.11 Alkollü ortamda $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ile serumdaki Cl^- tayini sonuçları

Deney No	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ml)	Cl^- miktarı (meq/lt)
I	19.8	93.0
II	20.0	94.0
III	19.7	92.6
IV	19.8	93.0
V	20.0	94.0
VI	19.9	93.5

Ortalama . : 93.35
 Standart sapma : 0.5787
 Relatif standart sapma : % \pm 0.620

İdrar içerisindeki klorür tayinini yapabilmek için 2 ml idrar alınmış, üzerine 1 ml su ve 0.1 ml bromfenol mavisi daha sonra 0.1 N HNO₃ ilave edilmiştir. Ardından 10 ml % 95'lik etil alkol ve difenil karbazon ilave edilerek iyice çalkalanmış ve 9.4×10^{-3} N'lik Hg(NO₃)₂ ile titre edilerek sonuçlar Çizelge 3.12 de verilmiştir.

Şekil 3.12 Alkollü ortamda Hg(NO₃)₂ ile idrardaki Cl⁻ tayini sonuçları

Deney No	Hg(NO ₃) ₂ (ml)	Cl ⁻ miktarı(meq/lt)
I	46.0	216.2
II	46.0	216.2
III	45.6	214.3
IV	45.8	215.3
V	46.0	216.2
VI	46.0	216.2

Ortalama : 215.73
 Standart sapma : 0.789
 Relatif standart sapma : % \pm 0.365

3.3.5 Gümüş Nitratla Klorür İyonlarının Tayini

Gümüş nitratla klorür iyonlarının gökelmesine dayalı bu yöntem Mohr yöntemi olarak bilinmektedir. Dönüm noktasının belirlenmesinde % 5'lik K₂CrO₄ kullanılmaktadır. Titrasyon sürecinde ortamın nötral olması gerekmektedir.

Öncelikle yapılan işlemlerin tekraredilebilirliklerini görmek ve normalitesi bilinen NaCl için; 5 ml NaCl alın-

mış üzerine 1 ml su, 0.5 ml K_2CrO_4 eklenerek iyice çalkalanmıştır. Daha sonra 0.1004 N $AgNO_3$ ile titre edilerek sarfedilen $AgNO_3$ miktarı saptanmıştır. Bu işlem 6 kez tekrarlanmıştır ve sonuçlar Çizelge 3.13'de verilmiştir.

Çizelge 3.13 Standart NaCl çözeltisi için sarfedilen $AgNO_3$ ve bulunan klorür derişimleri

Deney No	$AgNO_3$ (ml)	Cl^- miktarı (meq/lt)
I	5.10	102
II	5.00	100
III	5.10	102
IV	5.00	100
V	5.00	100
VI	5.00	100

Ortalama : 100.66

Standart sapma : 1.032

Relatif standart sapma : % \pm 1.025

Daha sonra serum içerisindeki klorür miktarını belirleyebilmek için sırasıyla aşağıdaki işlemler yapılmıştır. 5 ml serum alınmış üzerine 4 ml su ve 0.5 ml K_2CrO_4 konulmuş iyice çalkalanarak 0.1004 $AgNO_3$ ile titre edilerek tuğla kırmızısı renk elde edilmiştir. Serum içerisindeki klorür miktarları ile ilgili sonuçlar Çizelge 3.14'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.14 Gümüş nitrat ile serumdaki klorür tayini sonuçları

Deney No	AgNO ₃ (ml)	Cl ⁻ miktarı(meq/lt)
I	4.7	94.0
II	4.7	94.0
III	4.8	96.0
IV	4.7	94.0
V	4.7	94.0
VI	4.7	94.0

Ortalama : 94.33
 Standart sapma : 0.816
 Relatif standart sapma : % ± 0.865

İdrar içerisindeki klorür miktarını saptamak için 2 ml idrar alınmış üzerine 4 ml su ve 0.5 ml K₂CrO₄ eklenerek iyice çalkalanmıştır. Daha sonra 0.1004 N AgNO₃ ile tuğla kırmızısı renk elde edilene dek titre edilmiş, sonuçlar Çizelge 3.15'de verilmiştir.

Çizelge 3.15 Gümüş nitrat ile idrardaki klorür tayini sonuçları

Deney No	AgNO ₃ (ml)	Cl ⁻ miktarı(meq/lt)
I	4.4	220
II	4.5	225
III	4.5	225
IV	4.4	220
V	4.4	220
VI	4.5	225

Ortalama : 222.5
 Standart sapma : 2.73
 Relatif standart sapma : % ± 1.230

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, klorür tayini için üç ayrı volumetrik deney ile daha seyreltik çözeltilerde kullanılabilen UV spektrofotometrik ve atomik absorpsiyon yöntemleri denenmiş, belirtilen yöntemlerle elde edilen klorür tayin sonuçları istatistiksel ve analitik kimyasal açıdan değerlendirilmiştir.

Biyolojik sıvılarda, yani serum ve idrarda yöntemler arası karşılaştırmaların pozitif bir şekilde yorumlanması için toplanan serum ve idrarlar birleştirilmiş, böylece aynı serum ve idrar çözeltisi kullanılmıştır. Sonuçta deney sonuçları arasında anlamlı bir yorum olanağı elde edilmiştir.

Herbir yöntemle önce standart sodyum klorürün tayini gerçekleştirilmiş ve deneylerin tekraredilebilirlik ve duyarlıkları incelenmiştir. Burada sonuçları karşılaştırma olanağı bulunmaktadır, çünkü standart sodyum klorürün yanında deney sonucunu etkileyici başka bir madde bulunmamaktadır. Yalnız, gümüş nitrat, alkollü ve alkolsüz ortamda civa(II) nitrat çözeltileri ile yapılan çalışmalarda fazla miktarda klorür çözeltisine gerek olduğu belirtilmelidir. Volumetrik deneylerde standart sodyum klorür çözeltilerinin ortalama değerleri Çizelge 4.1 de toplanmıştır. Buna göre yöntemler arasında iyi bir uyuma bulunmaktadır.

Çizelge 4.1 Volumetrik yöntemlerle ortalama klorür miktarları

meq/lt	meq/lt	meq/lt	meq/lt
AgNO ₃	Alkollü ortamda Hg(NO ₃) ₂	Sulu ortamda Hg(NO ₃) ₂	Ortalama
100.6	99.45	99.83	99.96

Cıva II nitrat ile volumetrik klorür tayininin alkollü ve alkolsüz ortamlarda gerçekleştirilmesinin nedeni alkollü ortamda Cıva II nitrat ile yapılan titrasyonda dönüm noktasının duyarlı olarak tayin edilebilmesi olduğu söylenebilir (22).

Volumetrik deney sonuçlarından görüldüğü gibi, deney sonuçları ortalamalarının ortalamasının 99.96, en yüksek değer ile en düşük değer arasındaki farkın 1.15 olduğu ortaya çıkmaktadır. Milieşdeğer gram NaCl derişimi tesadüfen 100 dolayında bulunduğundan, yaklaşıklıkla yüzde hatanın 1 dolayında olduğu hesaplanmaktadır. Sulu ortamdaki cıva II nitrat ile titrasyonda dönüm noktasının tayininde difenil karbazon ile özen gösterilmeksizin sonuca ulaşılabilmektedir. Alkollü ortamda cıva II nitrat ile yapılan tayinde alkol oranının iyi ayarlanması gerekmektedir. Az alkollü ortamda indikatörlerin çözünmesi problem yaratmakta, dönüm noktası iyi izlenememektedir. Fazla miktarda alkol katılması halinde ise inorganik maddelerin kristallenme olasılığı bulunmaktadır. Bu durumları ortadan kaldırabilmenin en iyi yolu önce bromfenol mavisi sonra nitrik asit ve yeterince alkol, en sonda da difenil karbazon katılmasıdır. Bu yol izlendiğinde dönüm noktası çok iyi bir şekilde gözlenebilmektedir.

Yukarıda incelenen yöntemleri kullanarak serum ve idrarda klorür tayinleri gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerin sonuçları Çizelge 4.2 de toplanmıştır.

Çizelge 4.2 Volumetrik yöntemlerle serum ve idrardaki ortalama klorür miktarları

meq/lt	meq/lt	meq/lt	
AgNO ₃	Alkollü ortamda Hg(NO ₃) ₂	Sulu ortamda Hg(NO ₃) ₂	Ortalama
94.33	93.35	94.00	93.89
222.50	215.70	212.80	219.00

Serum için deney ortalamalarının ortalaması 93.89 farkı 0.98, idrar için 219.0 farkı 9.7 dir. Bu sonuçlara göre deneylerin tekraredilebilirlikleri ve duyarlılıkları oldukça iyidir. Özellikle serumdaki protein varlığı gözönüne alınırsa, sapma olasılığı düşünülebilir. Sonuçta gümüş ve civa katyonunun klorür iyonu ile yapmış olduğu bileşiğin çözünürlük çarpımının, aynı katyonların proteinlerle yapacağı kompleksin kompleks sabitinden daha kuvvetli olduğu söylenebilir.

İnsan serumundaki normal klorür değeri olarak tüm kanda 77-90.6 meq/L veya 273-321 mg/100 ml, serum veya plazmada 100.0-107.4 meq/L veya 355-381 mg/100 ml verilmektedir. İdrar için diyete bağlı değerler bulunabilmektedir.

24 saatlik idrardaki klorür miktarının ise 7368 olduğu belirtilmektedir (13). Çizelge 4.2 de bulunan bütün değerler normal sınırlar içerisinde bulunmaktadır.

Yöntemin prensibi, doygun $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ den, ortamdaki klorür ile birleşerek açığa çıkan SCN^- iyonlarının tayinine dayanmaktadır. SCN^- iyonları Hg^{++} iyonları ile kompleks oluşturmaktadır ve kompleks sabitleri,
 $K_1 \times K_2 = 1.8 \times 10^{17}$ $K_3 = 5.1 \times 10^2$ $K_4 = 6 \times 10^1$ (9).
 $\text{Hg}(\text{SCN})_2$ nin klorür iyonları ile karşılaşması sonucu HgCl_2 nin sağlam bir bileşiği oluşmaktadır. HgCl_2 için kompleks ligant sabitleri $\log \beta_1 = 6.7$, $\log \beta_2 = 13.2$, $\log \beta_3 = 14.1$ verilmektedir (17). Bu değerlere göre klorür iyonu ile daha sağlam bileşik yapmaktadır ve bu sonuca göre kantitatif çalışılması mümkündür. Bu nedenle, uygulamaların kit haline getirilmesi kriterleri incelenmiştir.

Rutin analiz laboratuvarlarında hazır kitlerin yararları yadsınamaz. Duyarlı sonuç veren ve tayinlerde kolaylık sağlayan yöntemlerin kit haline sokulması birçok analitik kimyacının amacıdır.

Belirtilen yöntemle çok az numunede duyarlı tayin-

lerin yapılması mümkündür. Tayinlerde 0.2 ml serum, ve seyreltme ile 0.05 ml ye karşı gelen idrar numunesi kullanılmaktadır. Bu, yöntemin önemli üstünlüklerinden biridir. Kolay uygulanabilir olması yöntemin diğer üstünlüklerindedir. Çok sayıdaki numunenin kısa sürede bu yöntemle tayini kolaylıkla başarılabilir. (11).

Karşılaştırma yöntemi olarak az miktar numunelerde tayin olanağı veren başka bir yöntemin seçilmesi düşünülmüş ve atomik absorpsiyona dayalı bir teknik kullanılmıştır. Bu yöntemin temeli indirek bir yöntemdir (1). Aşırı olarak katılan Ag^+ iyonlarının reaksiyona girmeyen miktarının atomik absorpsiyonla tayini ile sonuca ulaşılmaktadır. Yalnız ortama klorür iyonlarını çöktürücü olarak katılan gümüş iyonlarının milieşdeğerliğinin kesin bilinmesi ve atomik absorpsiyon aletinde okuma aralığının belli sınırlar arasında geçerli olduğundan uygun seyreltmeler yapılması gerekmektedir (12).

Gelebilecek hataları ortadan kaldırarak duyarlı klorür tayini yapabilmek için standart NaCl çözeltisi kullanılarak kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Tekniğin indirek bir yöntem olması nedeniyle kalibrasyon grafiği alışlagelmişin tersi şeklinde meydana gelmektedir. Bu, numunedeki klorür miktarının fazla olması durumunda çöktürücü olarak kullanılan Ag^+ iyonlarının çoğunun tüketilmesine dayanmaktadır.

Atomik absorpsiyona dayalı bu teknikte serum ve idrardaki klorür miktarları tayin edilmiş ve bulunan değerler diğer yöntemlerle yapılanlarla iyi bir uyuşma gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Yukarıda yapılan tartışmalara göre spektrofotometrik yolla yapılan tayinlerin daha duyarlı, oldukça çabuk, az numune ile başarılabilen bir teknik olduğu ortaya çıkmaktadır. Bunlara ek olarak, rutin amaçlarla kullanılacak kit şekline sokularak ekonomik yarar sağlanabileceği söylenebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmanın amacı belirlenirken rutin analizlerde kolaylık sağlamaya yönelik bir yöntemin seçilmesi ve incelenmesine özen gösterilmişti. Bu fikirlerden hareketle araştırma projelendirilmiş ve çalışmalar yapılmıştır. İncelenen yöntemler arasında yukarıda belirtilen amaca en iyi uyan yöntemin klorür iyonlarının açığa çıkartmış olduğu tiyosiyanat iyonlarının spektrofotometrik tayinine dayalı yöntemin olduğu sonucuna varılmıştır. Belirtilen yöntemin uygulamaya yönelik ve ekonomik değerinin bulunduğu hemen söylenebilir. Uygulanabilirliği konusunda ise, biyokimya analizlerinin yapıldığı laboratuvarında belli bir açığı kapatacağı söylenebilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Bartels, H.: An indirect determination of serum chloride by atomic absorption methods. Atomic absorption newsletter. 6:132, 1967.
2. Baykut, F.: Anorganik kimya praktikumu. Dördüncü bas-ki, İstanbul Univ. Yayınları. No. 18, 1974, s. 143-146.
3. Belcher, R., McDonald, A.M.G. and Parry, E.: On Mohr's method for the determination of chlorides. Analytica Chim. Acta. 16: 524-529, 1957.
4. Berry, A.J. and Driver, J.E.: Observations on the use of potassium chromate as indicator for the titration of chlorides with silver nitrate. Analyst. 16: 730-734, 1939.
5. Brown, D.K., Parker, A.G.: Determination of chloride ion in concentrated sulphuric acid. 107(1281): 1510-1512, 1982.
6. Buchholz, A.E., Verplough, C.I., Smith, J.L.: A method for the simultaneous measurement of less than a part-per million of chloride, nitrate, and sulfate in aqueous samples by non suppressed ion chromatography. J. Chromatography. 20(11) : 499-501, 1982.
7. Carel, A.B., Whitaker, M.J.: Colorimetric method measures organic chloride in naphtha fraction of crude oil. 80(10): 269-272, Oil Gas J. 1982.
8. Dessouky, Y.M., Toth, K. and Pungor, E.: The application of anion-selective membrane electrodes in pharmaceutical analysis. Analyst., 95(4): 1027-1031, 1970.
9. Douglas, A.S., Donald, A.M.: Fundamentals of Analytical Chemistry. pp. 818-819, 1980.
10. Gaffney, M., Cooke, M.: Analysis of ionic species by HPLC, Analytical Proc. 22(1): 25-27, 1985.
11. Gambrell, J.W.: The use of an atomic absorption spectrophotometer for end point determination: Application to chloride in waters. Atomic Absorption Newsletter. 2: 125, 1972.
12. Garcia, V.M., Milla, M., Perez-Bustamanta, J.A.: Atomic absorption spectroscopy as a tool for the determination of inorganic anions and organic compounds. Analyst. 108(1293): 1417-1423, 1983.
13. Geigy, J.R., Basie, S.A.: Documenta Geigy scientific tables, sixth edition. pp.313, 1962.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

14. Hara, H., Okazaki, S.: Two-point gran titration of chloride in natural waters by using a silver-sulphide ion selective electrode. *Analyst.*, 109(10): 1317-1320, 1985.
15. Moss, E.P.; Stephen, W.I.: The simultaneous determination of chloride, bromide and iodide by HPLC. *Anal. Proc.*, 22(1): 5-6, 1985.
16. Pasternak, C.A.: İnsan biyokimyasına giriş. (Çev. Cilib, G., Emerk, K., Karan, A.). Hacettepe Üniv. Yayınları, No. A-40, 1980.
17. Ringbom, A.: Les complexes en chimie analytique. 280, 1963.
18. Smith, R.E.: Determination of chloride in sodium hydroxide and in sulfuric acid by ion chromatography. *Anal. Chem.* 55(8) : 1427-1419, 1983.
19. Sunam, G.: Genel farmakoloji. İstanbul Üniv. Yayınları. No. 3043, 1982.
20. Vural, S., Çetin, E.T., Tuzlacı, U., Tağ, T.: Klinik teshiste laboratuvar. s. 68-69, 1986.
21. Wang, C.Y., Bunday, S.D., Tartar, J.G.: Ion chromatographic determination of fluorine chlorine bromine, and iodine with sequential electrochemical and conductometric detection. *Anal. Chem.* 55(9) : 1617-1619, 1983.
22. White, D.C., Titrimetric determination of chloride using mercuric nitrate. *Microchim. Acta.* pp. 449, 1961.
23. Williams, R.J.: Determination of inorganic anions by ion chromatography with ultraviolet absorbance detection. American Chemical Society. 55(6): 851-854, 1983.
24. Zsigrai, I.J., Bartusz, D.B.: Coulometric thermometric titration of halides in molten calcium nitrate tetrahydrate. *Talanta.* 30(1): 54-56, 1983.

ÖZGEÇMİŞ

T.C. vatandaşı olan Göksel Altıokka 1961 yılında Balıkesir'in Susurluk ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Susurlukta tamamladıktan sonra 1986 yılında Anadolu Üniversitesi Müh. Mim. Fak. Kimya Mühendisliği Bölümünden mezun oldu. 1987 yılında Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde göreve başladı. Halen buradaki görevini sürdürmekte olup yabancı dili İngilizcedir.



T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümanasyon Merkezi