

**HALKA-FIRIN YÖNTEMİ İLE BÖBREK TAŞLARININ
YAPISINDA YER ALAN İYONLARIN
NİTEL VE NİCEL ANALİZLERİ**

Analitik Kimya
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

ECZ. SEDEF KOT

ANKARA - 1983

Araştırmalarımın yürütülmesinde her türlü bilgi ve yardımlarını esirgemenen hocam Doç.Dr. Aytekin Temizer'e, çalışmalarımındaki katkılarından dolayı Sayın Doç.Dr. Aysen Karan'a ve taşınmateryalinin sağlanmasındaki yakın ilgisinden dolayı Üroloji Ana Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç.Dr. Mehmet Bakkaloğlu'na teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasındaki ilgi ve yardımlarından dolayı aileme, çalışma arkadaşlarıma ve ayrıca tüm bölüm personeline teşekkür ederim.

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
I. GİRİŞ VE AMAÇ	1
II. GENEL BİLGİLER	2
II.1. Halka-Fırın	2
II.1.1. Halka-Fırın Yöntemi	2
II.1.2. Halka-Fırın Yönteminin Diğer Yöntemlerden Farkı	6
II.1.3. Halka-Fırın Yönteminin Uygulamaları	7
II.2. Böbrek Taşları	10
II.2.1. Böbrek Taşlarının Oluşumu	10
II.2.2. Taş Oluşumunda Rol Oynayan Etkenler.....	16
II.2.3. Böbrek Taşlarının Kimyasal Bileşimi	22
II.2.4. Böbrek Taşlarının Analiz Yöntemleri	25
II.2.4.1. Nitel Analiz Yöntemleri	25
II.2.4.2. Nicel Analiz Yöntemleri	26
III.DENEYSEL KISIM	33
III.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
III.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	35
III.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	36
III.4. Kullanılan Yöntemler ve Deneyler	40
III.4.1. Halka-Fırın Yöntemi	40
III.4.1.1. Halka-Fırın Cihazı	40
III.4.1.2. Halka-Fırın Yönteminin Böbrek Taşlarına Uygulanışı	41
III.4.1.2.1. Standart Çözeltilerin Hazırlanması ve Standart Skalının Oluşturulması	43

	<u>Sayfa</u>
III.4.1.3. Halka-Fırın Yöntemi ile İdrar- da Yapılan Çalışmalar	47
III.4.2. Titrimetrik Yöntemler ile Yapılan Analiz- ler	48
III.4.2.1. Kompleksometrik Titrasyon ...	48
III.4.2.1.1. Standardizasyon ve Yön- temin Taş Çözeltilerine Uygulanması	49
III.4.2.2. Permanganimetrik Titrasyon' ..	50
III.4.2.2.1. Standardizasyon ve Yönte- min Taş Çözeltilerine Uygulanması	51
III.4.3. Spektrofotometrik Yöntemler ile Yapılan Analizler	51
IV. BULGULAR	56
V. SONUÇ VE TARTIŞMA	79
ÖZET	88
SUMMARY	90
KAYNAKLAR	92
EKLER	100
ŞEKİLLERİN VE TABLOLARIN LİSTESİ	109

GİRİŞ VE AMAÇ

Böbrek hastalıkları içinde böbrek taşı oluşumuna sık rastlanmaktadır. Bu taşların bileşimlerinin aydınlatılması tedavi açısından faydalar sağlamaktadır (1).

Uzun yıllar boyunca böbrek taşlarının nitel ve nicel analizleri için pek çok yöntem denenmiştir. Bu yöntemlerin çoğu pahalı cihazları gerektirmektedir. Ayrıca birkaç belirteç kullanılarak yapılan kimyasal analizler ise ancak nitel sonuçlar verebilmektedir (2).

Böbrek taşı teşhis edilip, hastalardan ameliyatla çıkarıldıktan sonra, bileşimindeki iyonların nitel ve nicel analizlerinin yapılabilmesi için basit, kullanışlı, kısa sürede sonuç verebilen, duyarlı ve tekrarlanabilir özellikleri taşıyan, ucuz bir yöntemin önerilmesine çalışılmıştır.

Halka-fırın yöntemi ile iyonların ve organik moleküllerin nitel ve nicel belirlenmeleri yapılabilmektedir (3). Bu araştırmada, halka-fırın yönteminin taş yapısının aydınlatılması yönünde kullanılması ve rutin analizde uygulanabileceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Ayrıca, taşlı hastalardan alınan idrar örneklerinin analizi için de bu yöntemin uygulanabilirliğinin araştırılması düşünülmüştür.

Halka-fırın yöntemi ile yapılacak taş numune analiz sonuçları yayınlarında belirtilen yöntemler arasından denenerek seçilen titrimetrik (4) ve spektrofotometrik (5,6) yöntemlerle karşılaştırılarak, yöntemin doğruluğunun araştırılması planlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

II.1. Halka-Fırın

II.1.1. Halka-Fırın Yöntemi :

Halka-Fırın yöntemi, 1954 yılında Weisz tarafından geliştirilmiş olup süzgeç kağıdına uygulanan leke analizinin özel bir şeklidir. İyonlar, moleküller ve fonksiyonel gruplar süzgeç kağıdında tutulmalarına göre, derişimlerine bağılı olarak değışen, kesin ve belirgin halkalar oluştururlar (3).

Leke testleri, özellikle eser element analizlerinde birkaç damla çözelti kullanılarak yapılabilmektedir. Leke tablası veya süzgeç kağıdında tepkimeler, numune ve ayıracın çok küçük hacimleri ile oluşturulur. Tepkime sonucunda oluşan bileşik, renkli leke şeklinde görülür (7).

Weisz halka-fırını, leke kolorimetrisine dayanan mikro analitik işlemlerin geliştirilmesinden sonra inorganik yarı-nicel analiz için kullanılmaya başlanmıştır. Weisz halka-fırını ile yapılan analiz sonuçlarının, leke kolorimetrisi ile değerlendirildiğinde daha fazla kesinlik ve doğruluk kazandığı gözlenmiş ve tüm işlem "halka-kolorimetrisi" olarak adlandırılmıştır (3,8).

Yarı-nicel halka-fırın yönteminde sonuçlar, diğer analitik yöntemlerde olduğu gibi yaklaşık hata dereceleri ile verilir. Yarı-nicel analitik yöntemlere başvurulabilmesi için üç ön koşul bulunmaktadır (3):

1- Numune miktarının az olduğu ve daha üstün yöntemlerin kullanışlı olmadığı ;

2- Kesin sonuç elde edilmesinden önce, hızlı bir şekilde ön fikir elde edilmek istenildiği;

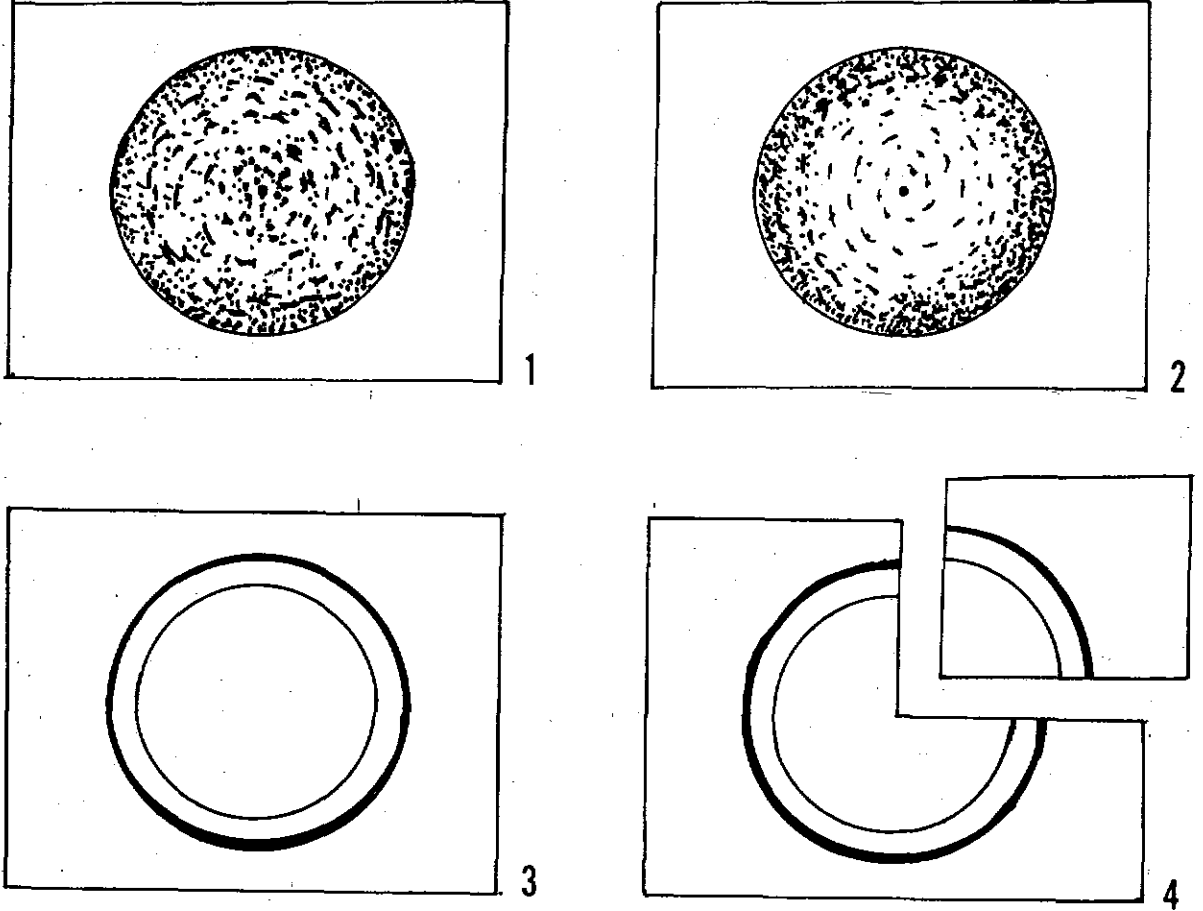
3- Çok duyarlı sonuçların gerekli olmadığı durumlardır.

Yarı-nicel analizlerde, leke tepkimelerinin kullanılmaları, inorganik veya organik iyon veya moleküllere uygulanmalarındaki özellikleri ve duyarlıklarından dolayıdır.

Halka-fırın tekniğinde, birden fazla iyon veya molekül içeren çözeltinin bir damlası ile analiz yapılabilir. Bu yöntemde ısıtılan halkanın üzerine yerleştirilen süzgeç kağıdının ortasına numunenin bir damlası damlatılır. Bu damlanın üzerine uygun çözeltiler damlatılarak iyonların, moleküllerin veya fonksiyonel grupların kılcal hareketle halkanın kenarlarına doğru yayılması sağlanır. Bu yıkama çözeltisinin seçiminde, damla içinde bulunabilecek iyonlarla etkileşmeye girebilecek maddelerin bulunmamasına ve damla içindeki maddelerin kendi aralarındaki etkileşmeyi de en aza indirebilecek şekilde olmasına dikkat edilmelidir. Isıtılan yüzeye gelen yıkama çözeltisinin hızla buharlaşmasıyla, iyonlar veya organik moleküller ince bir halka şeklinde toplanırlar. Bu halka, analizi yapılacak bileşen sayısına göre çeşitli kısımlara ayrıldıktan sonra her bir bileşen için ayrı leke testleri uygulanarak analiz edilir (9-12). Halka-fırın yönteminde uygulanan bu analiz şema şeklinde Şekil 1'de gösterilmiştir.

Bilinmeyen çözeltinin analizi ile elde edilen halkaların renk şiddeti, aynı işlemlerden geçmiş olan standart halkalar ile karşılaştırılarak denk gelen standart halka seçilir. Böylece bilinmeyen çözeltinin derişimi bu karşılaştırma sonucu bulunur. Eğer hacim biliniyor ise, madde-

nin miktarı da belirlenebilir (12). Bununla beraber, renklerin standartlarla karşılaştırılması zaman zaman hatalı sonuçlara yol açabilir.



ŞEKİL 1. Halka-Fırın yönteminde uygulanan analiz şeması :

- 1- Numunenin uygulanması.
- 2- Çözme işlemi.
- 3- Halka oluşturulması.
- 4- Analiz için kısımlara ayrılması.

Halka-fırın yönteminde, farklı sayıda standart çözelti damlacıklarından halkasal lekeler hazırlanarak standart bir skala oluşturulabilmektedir. Numune halkaları uygun bir belirteç ile tepkimeye sokulup renkleri

standart halkalar ile karşılaştırıldıktan sonra, farklı sayıda numune damlalarından halkasal lekeler hazırlanarak bunlara karşılık gelen standart halkaların saptanması ile de hatalar en aza indirgenebilmektedir (13).

Halka-fırın yönteminde karşılaştırma için, değişik ve bilinen derişimlerden hazırlanmış bir seri standart renkli halkaların daha önceden hazırlanmış olması gereklidir. Standart skalanın hazırlanması için tek bir standart çözelti yeterlidir. Zira farklı damla sayılarında standart çözeltinin eklenmesiyle, farklı miktarda madde taşıyan standart halkalar hazırlanabilirler(14).

Standart çözelti derişiminin seçiminde, oluşan tepkimenin özelliği ve damla hacmi önemli etkenlerdir. Aynı pipet kullanılarak damla hacminin değişmemesi sağlandığında, standart çözelti derişimi oluşan tepkimenin özelliğine bağlı olur. Analizi yapılan iyonun renkli ve çözünmeyen bir ürününü verecek tepkime kullanılmalıdır. Oluşan ürün uzun süre kararlı olursa, oluşturulan standart halkalar da kararlı olur (3).

Standart çözeltinin en uygun derişimi daima tanınma sınırına yakın ve damlanın kesin gözlenebilir bir leke verdiği bölgede olmalıdır. Leke tepkimesinin duyarlılığının belirlenmesinde iki önemli etken bulunmaktadır (15) :

1- Tanınma sınırı,

2- Sınır derişimi veya tepkime vermeyen düşük seyrelme sınırıdır. Halka-fırın yöntemi, çözeltilerin çok seyreltik derişimlerinin uygulanmasına olanak tanır. Halkada toplanan gerçek miktar, tek etkin faktördür. Halka-fırın yönteminde, elde edilen yüksek derişimli renkli

halkaların, tanınma sınırının saptanmasında kullanılması en önemli avantajdır. Süzgeç kağıdındaki çözelti lekesinde iyonlar, halka şeklinde toplandığında derişim büyümekte; bu da çok düşük miktarların belirlenmesini sağlamaktadır.

Adsorbsiyon tepkimelerinin, lekelerde dağılmalara yol açmasına sık rastlanmakta olup, bu durum hatalara neden olmaktadır. Halka-fırın yönteminde ise, maddeler kesin ve belirgin halkalar şeklinde toplanırlar. Oluşan halkasal lekeler derişime bağımlı olup, damla sayısına bağılı olmaması nedeniyle leke kolorimetrisi yöntemiyle değerlendirilmeye uygundur (16).

Halkanın renk şiddeti veya genişliği, halka kenarında toplanan madde miktarının bir göstergesi olup numune ve standart halkaların renk şiddetleri doğrudan karşılaştırılır. Halkalar hem süzgeç kağıdının önünden gelen, yani yansıyan ışık ile; hem de kağıdın arkasından gelen, yani absorblanmayıp geçen ışık ile incelenmelidir (3).

Halkalarda renk şiddetlerinin veya yoğunluklarının gözle karşılaştırılmasıyla doğru sonuçların elde edilebileceği ispatlanmış olmakla birlikte, bu yolun aletlerle yapılan ölçümlerden üstün olmadığı bilinmektedir. Araştırmalarda, insan gözünün ayırt etme kapasitesine bağılı olarak karşılaşılan güçlükler, fotometrelerin kullanılması ile giderilebilmiştir. Bununla beraber halka-fırın yöntemi ile ve gözün ayırma kapasitesi içinde elde edilen sonuçlar leke kolometrisi ile karşılaştırıldığında oldukça güvenilir değerler elde edilebildiği de görülmüştür (3).

II.1.2. Halka-Fırın Yönteminin Diğer Yöntemlerden Farkı:

Damıtma ve kağıt kromatografisi gibi özel tekniklerden farklı olarak sık rastlanan diğer analitik ayırım yöntemleri, karışımlardaki bir

birden fazla maddeyi az çözünen bileşikleri haline çevirerek süzme ile ayırmaya dayanır. Bileşenlerden biri, uygun bir ayıraç ile çöktürülerek ayrılır. Çökelek süzülür ve yıkanır. Bu çökelek tekrar çözülerek diğer işlemlere devam edilir. Damıtma ve kağıt kromatografisi yöntemleri ise daha farklı bir ayırma dayanmaktadır. Bu ayırım yöntemlerinde, gerekli olan numune miktarı, halka-fırın için gerekli olandan çok daha fazladır. Düşük derişimlerde olan maddeler, işlemlerdeki seyreltmeler sonucu tanınma sınırının altına düşebileceğinden, test çözeltisinin seyreltilmesi her zaman uygulanamaz (17).

Halka-fırın yöntemi bir kağıt kromatografisi olarak değerlendirilmemelidir. Çünkü kağıt kromatografisinde maddeler, kağıtta her seferinde tek yönlü olmak üzere sürüklenirler. Halka-fırın yönteminin, kağıt kromatografisinin özel bir şekli olarak da adlandırılmayacağı bildirilmiştir (3). Kağıt kromatografisinde ayırım, çözücü ve çözücü karışımları tarafından maddelerin farklı davranışlarına bağlı olarak gerçekleşmektedir. Sonuçta maddeler başlangıç noktasından farklı uzaklıklara göç ederler. Halka-fırında ise, bütün maddeler belirli sıcaklıktaki bir ortamda aynı çizgi üzerinde yoğunlaştırılır.

II.1.3. Halka-Fırın Yönteminin Uygulamaları :

Bilinmeyen karışımın nicel analizinde en önemli işlem, bir veya daha çok gruptan bileşiklerin ayırımıdır. Ayırım tekniği bir grupta toplanacak maddelerin, sonraki gruptaki herbir bileşiğin tanınma ve belirlenmeleri ile karışmasına yol açmayacak şekilde seçilmelidir. Bu durum bütün analitik işlemler için geçerli bir kuraldır. Halka-fırın yönteminde, bazı analitik ayırma işlemleri ile birlikte çok sayıda iyonlar veya

organik moleküller çeşitli gruplara ayrılarak analiz edilebilmektedirler (18). Ayırma işlemi, ya ikinci bir süzgeç kağıdına yıkamanın sağlanması ile, ya da değişik grup çöktürücü ayıraçları veya tüketme çözücüleri ile yapılan deneylerin ayrı ayrı veya birlikte kullanılması ile yapılabilir.

Halka-fırın yönteminde ayırmanın süzme ve kimyasal çöktürme ile birlikte yapılması sıkça karşılaşılan bir durumdur. Ancak, numune çözeltisi 1 µl'den küçük hacimlerde olduğunda, ayırım için bu işlemlerin kullanılması zorlaşır.

Süzgeç kağıdı, leke testi çalışmalarında, tepkime ortamı olarak kullanılır. Kağıda bir damla numune konulduktan sonra üzerine uygun ayıraçlar eklenir. Tepkime sonucu, kağıt liflerine absorblanmış renkli çözünmeyen bileşikler oluşur. Numune üzerine uygulanan ayıraç tarafından değişime uğramamış çözünen kısımlar ise uygun çözeltiler ile yıkanarak halka şeklinde toplanırlar. Bu ayrılımda, süzgeç kağıdının kılcal yapısı rol oynar. Yıkanarak toplanan bu maddelerin çözünmeyen bileşiklerden tam olarak ayrılması sağlanmakla birlikte, miktarlarında difüzyonla bir azalma olabilmektedir. Buna bağlı olarak, bundan sonraki işlem olan toplanan maddelerin uygun belirteçlerle renklendirilmesi sırasında test duyarlılığı kaybolabilmekte ve tepkime süzgeç kağıdının porları içinde ilerleyerek difüzyonla için belirgin renkli halkalar elde edilememektedir (10).

Halka-fırın yönteminde süzgeç kağıdında duyarlılık kaybının arttığı gözlenirse, disk yönteminin uygulanmasına geçilir. Aynı zamanda pratik de olan disk yönteminde, halka-fırın üzerindeki süzgeç kağıdının ortası-

na, halka çapından yaklaşık on kez ufak ve adsorban bir kağıttan oluşan disk yerleştirilir. Diskin ortasına numune damlatılır. Bunun üzerine uygun ayıraç ilave edilince, tepkimeye girenler kağıda geçerek hareket ederler. Numune lekesi, yıkama sonucu halkaya tamamen difüzlenir. Tepkime sonra erdiğinde maddeler, halkanın renklendirilecek olan kısmında birikirler. Disk, diğeri bir süzgeç kağıdının üzerine konulup başka ayıraçlar uygulanırsa, çeşitli bileşenleri içeren halkalar da elde edilebilir. Uygun belirtecin ilavesi ile renklenen halkalar kesilerek, destekleyici testler için kullanılabilir. Ayrıca oluşan halkalar birden fazla bileşen içeriyorlarsa, parçalara ayrılarak her bir bileşen için ayrı testler uygulanabilir (19,20).

Halka-fırın yönteminin çok geniş bir uygulama alanı bulunmaktadır. Bu yöntem ile bilinmeyen karışımın bir damlasında 20 adet katyon tanınabilmektedir (21).

Halka-fırın yöntemi çözücü tüketimi ile birlikte kullanıldığında, analizi yapılabilen katyon sayısı 35'e çıkarılabilmektedir (22).

Halka-fırın yöntemi aerosollere uygulanarak hava-kirliliğii ile ilgili problemler araştırılmış (23) ve atmosferdeki fosforun hesaplanması için yıkama tekniğii ile birleştirilmiştir (24).

Ayrıca amino asitlerin sayılarının belirlenmesinde (25), şekerlerin (26), fenollerin (27), alkaloitlerin (28), antioksidanların (29), boyar maddelerin (30), organik bileşiklerdeki heteroatomların (31), fonksiyonel grupların (32) ayrılıp, belirlenmelerinde halka-kolorimetriyi yöntemi kullanılmıştır.

Halka-fırın yöntemi, radyoaktif maddelere de uygulanabilir. Halka

şeklinde toplanan radyoaktif maddeler, otoradyografi aleti yardımıyla belirlenirler (33).

Halka-fırın yöntemi, radyokimyasal yöntemlerin yanısıra, diğer analitik teknikler ile de birleştirilerek kullanılabilir. Halka-fırın yöntemi ile elektrografik yöntemler birlikte kullanılarak, alaşımların hızlı nitel ve yarı-nicel analizi yapılabilmektedir (34).

Kağıt ve ince tabaka kromatografisi de çeşitli yollarla halka-fırın yöntemi ile birleştirilmiştir. Ön ayırım için, kağıt veya ince tabaka kromatografisi kullanılmış, lekelerden bileşenlerin tüketilmesinden sonra halka-fırın yöntemine uygulanarak belirleme yapılmıştır (35).

İyon değiştiriciler ile halka-fırın yöntemi birlikte uygulandığında, daha hızlı ve kesin sonuçlara ulaşılmıştır (36).

Maddeler halka-fırın yöntemi ile ayrılıp, halka veya lekelerden çözülerek alındıktan sonra volumetrik analiz yöntemi ile de miktarlarının saptanması yapılabilmektedir (37).

Halka-fırında ayırım işlemi tamamlanan maddelerin belirlenmeleri için spektrofotometrik yöntemlere de başvurulmuştur (38).

Ayrıca adsorbsiyon' yönteminde, adsorbsiyon engelleme tekniği uygulanarak asit boyaların tanınmaları da sağlanmıştır (39).

II.2. Böbrek Taşları

II.2.1. Böbrek Taşlarının Oluşumu :

Böbrek taşları, idrar bileşiminde bulunan bazı maddelerin belirli koşullarda çökmesi ile oluşurlar. Taşın yapısına girecek maddelerin çökme bilmeleri için üç ön koşul vardır (40):

- 1- Söz konusu maddelerin idrarda fazla miktarda bulunmaları,
- 2- Maddelerin tamamıyla çözülmüş halde olmaları,
- 3- İdrar bileşiminin değişmesi sonucu maddelerin serbest hale geçmeleridir. Bu nedenlerle, maddeler çökerek primer taşı oluştururlar.

İdrardaki maddeler, idrarda bulunan iltihap elementleri, fibrin, irin ve benzeri yabancı maddelerin üzerine çökerek de sekonder taşları oluştururlar.

Genellikle böbrekte oluşan taş, üretere geçtiğinde ureter taşı, mesaneye düştüğünde mesane taşı veya uretrada tutunduğunda uretra taşı adını alır. Maddelerin çökerek taş oluşturabilmeleri için önce kalıs, pelvis veya böbrek dokusu içinde organik bir matriksin bulunması gerekmektedir. Ancak o zaman, idrardaki katı maddeler bu matriks üzerine çökerek taş oluşturabilirler. Ayrıca parazit yumurtaları, nekrotik dokular, epitel döküntüleri, kan elemanları, fibrin de taş oluşumuna katılmaktadır. Sonuçta, bütün böbrek taşlarının organik bir matriks içerdiği, sadece inorganik veya organik kütlelerin aglütinasyonu ile meydana gelmediği kararına varılmıştır (41).

Taş Matriksinin Bileşimi (1,42):

Çeşitli böbrek taşlarında yapının biyokimyasal bileşiminin araştırılması sonucunda taş matriksinin ana yapısını oluşturan mukoproteinlerin, taşın kuru ağırlığının % 2,5'ünü kapsadığı bulunmuştur. Her 100 g liyofilize matrikste, % 64 protein, % 9,6 amino grubu içermeyen şekerler (galaktoz, glukoz, ramnoz, fruktoz), % 5 glukozamin ve % 10 bağlı su bulunmaktadır. Matriksin kalan bileşimi, inorganik kül ve temel olarak kalsiyum ve fosfat iyonlarından oluşmaktadır. Yapıda, az miktarlarda

deoksipentoz bulunabilir. Ancak sialik asit, ketoheksoz veya hekuronik asit saptanmamıştır. Hidroksipiroline rastlanmamış ve bu bakımdan kollojen taşımadıkları sonucuna varılmıştır. Pirolin içeriğinin % 2'den az olması elastin veya fibröz proteinlerinden herhangi birinin de taş yapısında önemli miktarlarda yer almadığını gösterir.

Taş matriksinin moleküler bileşimi incelendiğinde, molekül ağırlığı 30,000-40,000 olan makromoleküllerden meydana geldiği görülmektedir. Matriks yapısındaki bu makromoleküller, "matriks maddesi A" olarak adlandırılmış; daha büyük makromoleküllerin ise, antijenik maddelerden oluştuğu gösterilmiştir. Bu makromoleküller normal ve patolojik idrarda bulunan diğer makromoleküllerden daha fazla çözünme özelliği taşımakta ve idrardaki miktarları taş oluşumuna katılan diğer bileşenlerden daha az olmaktadır. Hastalık durumlarında idrarda bulunan makromoleküller gerek nitel gerekse nicel açıdan büyük değişiklikler göstermesine karşın, matriksin bileşimi daima sabit kalmaktadır. Bu da, idrar bileşenlerinin taş matriksine katılışında seçiciliğin söz konusu olduğunu açıkça göstermektedir.

Taş yapısında yer alan matriks ve kristalloidler arasında belirgin bir ilişki bulunmaktadır. Merkezleri aynı, ince katmanlar halinde görülen ve gittikçe büyüyen halkalar arasında, matriks sık paralel fibriller halinde bulunmaktadır. Fazla ürik asit ve fibröz matriks içeren taşlarda ise, merkezi çizgilerin, ince katmanlar arasında uygun açılarda yer aldıkları gözlenir. Bu merkezi matriks çizgileri, kalsiyum hidrojen fosfat monohidrat kristalleri içeren taşlarda da aynı durumdadırlar.

Karakteristik diğer bir şekil kalsiyum okzalat taşlarında görülmektedir. Bu taşlar, düğme şeklindeki çekirdek üzerinde fibröz matriksin

aynı merkez etrafında ince katmanlar halinde birikmesi ile oluşmaktadırlar.

Diğer bir taş şeklinde ise, yapı taşı olarak 1 mm veya daha küçük boyutlarda kürecikler bulunmaktadır. Bu kürecikler kristalize bir merkez ve bu merkezin etrafında ince fibröz katmanlar içerirler.

Böbrek taşları içerdikleri kalsiyum fosfat miktarına bağlı olarak radyopak (röntgen ışınına geçirilmeyen) veya radyolüsent (röntgen ışınına geçiren) özelliktedirler.

Taşların yapısı, bulunan kristalloidlere, matrikse ve merkezi yapıya göre değişiklikler göstermektedir.

Taş Oluşumun Fizikokimyasal İncelenmesi (17,43,44):

Bir katı, sıvı içerisinde çözüldüğü zaman elde edilen en fazla derişime, çözünürlük adı verilir. Çözünürlük pH, sıcaklık, iyonik şiddet ve sıvının cinsi ile özelliğine bağlı olarak değişir.

Çözünme miktarı çözünürlük çarpımı (Kç) ile ifade edilmektedir. Çözünebilen bir tuz ile doymuş, sulu çözeltide, bir veya daha fazla tepkime eşitliği çözünürlük dengesine girecektir. Bu durumda çözünürlük çarpımı, bütün tepkimelerin denge sabitlerini içerir. Denge durumu için, çözünmemiş katının kalması istenir. Ancak denge durumu, katının miktarından etkilenmez; sadece katı fazın varlığı yeterlidir. Bu sebepten, denge ifadesinde katı partiküller için bir derişim terimi yer almaz. Çözünürlük çarpımı ifadesi, katı ve katı ile temasta bulunan çözelti arasındaki ilişkiyi belirleyip, tepkime sonucu oluşan ürünlerin derişimlerinin çarpımlarını içerir.

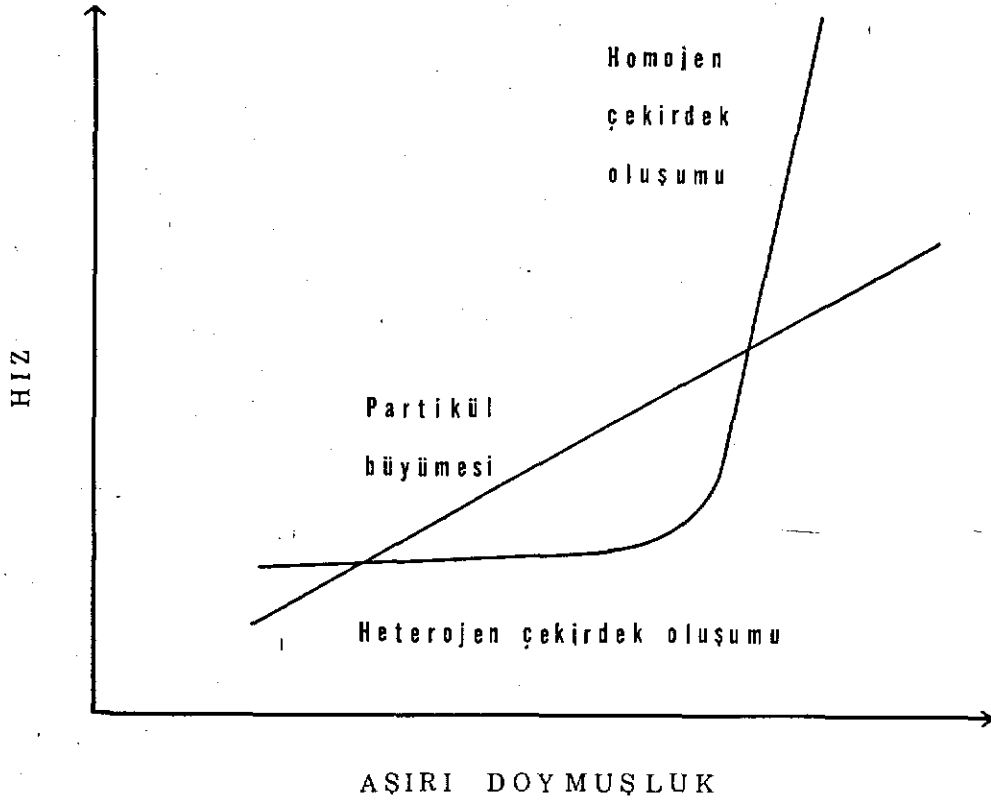
Çözünürlük çarpımındaki değere erişilmediği durumlarda, çözelti doymamıştır. Buna karşılık, Kç değeri aşıldığında, çözeltinin aşırı doymuş veya yarı kararlı olduğu söylenebilir. Bu yarı kararlı durumda çökme aniden olmaz. Çökme kirlilik, bakteri veya diğer bazı mikroorganizmalar gibi dış etkenlerin etkisi ile veya önceden oluşmuş kristallerin büyümesiyle oluşabilir. Eğer iyonik derişim daha da çoğaltılırsa, çökme kendiliğinden oluşur ve bu durumda çökelek üzerinde bulunan çözeltiye "doymuş çözelti" adı verilir.

Çökeleğin oluşmasında iki aşama vardır :

1. Çekirdek oluşumu
2. Partikül büyümesi

Çekirdek oluşumu, en az sayıda iyon veya moleküllerin biraraya gelerek dayanıklı bir ikinci faz oluşturmaları işlemidir. Çekirdek oluşumu, uygun iyon ve moleküllerin gerekli sayıda toplanmaları sonucu meydana gelirse homojen, çözelti içersinde küçük partikül halindeki safsızlıkları içeren yığılım halinde ise heterojendir. Homojen çekirdekleşme hızı üstel olarak değişir, heterojen çekirdekleşme hızı ise, aşırı doymuşluktan bağımsızdır. Şekil 2'de çekirdek oluşumu ve partikül büyüme hızının aşırı doymuşluk ile değişimi grafik şeklinde gösterilmiştir. Düşük aşırı doymuşlukta çekirdekler çözeltideki katı safsızlıkların sayısına bağlı olarak oluşur. Yüksek aşırı doymuşluk durumlarında ise, çekirdek sayısı, homojenliğin aşırı büyümesiyle bağıntılıdır.

Partikül büyümesi, çekirdeğe büyük partiküllerin bağlanması ile oluşur. Katyon ve anyonların katının uygun yerlerine çökmesi ile bir kafes oluşur. Partikül büyüme hızı, uygun yüzey alanı ve aşırı doymuşluk ile orantılıdır.



ŞEKİL 2. Çekirdek oluşumu ve partikül büyüme hızının aşırı doymuşluk ile değişimi (Kaynak 17)

İdrarın, genellikle, taş oluşturabilen tuzlarla aşırı doymuş olduğu gösterilmiştir. Bu durumlarda, iyonize olan bileşenlerin çeşitli çözünen kompleksler oluşturduğu ve buna iyonik kuvvetin de etkisinin bulunduğu bilinmektedir. Kalsiyum iyonu veya okzalik asidin idrarla atılmaları arttığında, idrarın aşırı doymuşluğu da artar.

İdrarda kalsiyum fosfat ile aşırı doymuşluğa erişildiğinde ve idrardaki hidrojen iyonu derişimi azaldığında, taş oluşumu, böbrek tübüler asidifikasyonunun eksikliği ile birlikte gözlenir. İnfekte olmuş idrarda amonyum iyonunun atılmasının artması ve pH'nın alkali yöne kayması sonucu, idrarın magnezyum amonyum fosfat ile doymuşluğu artar.

Oluşan taşın çözünmesinin, idrarın doymamış, doymuş veya aşırı doymuş olmasına ve ilk önce çöken tuzların çözünmeyen bileşiklerine kendiliğinden dönüşebilmesine bağlı olduğu belirtilmiştir.

II.2.2. Taş Oluşumunda Rol Oynayan Etkenler (1,41,45,46):

Böbrek taşlarının oluşumunu etkileyen faktörler iki genel başlıkta toplanabilirler :

1- İdrarın içerdiği kristalloid derişimlerinin artmasına bağlı değişimler başlıca iki yolla olabilir.

a) İdrar hacminin azalması : Sıvı alınınının az veya böbrek fonksiyonunun bozuk olması gibi durumlarda idrar hacmi azalmaktadır.

b) Kalsiyum, okzalat, sistin, ürik asit, ksantin ve amonyak atılmasının artması : İdrarın normal yapısında bulunan bu bileşenler, idrarla atılmaları arttığıında, çeşitli faktörlerin etkisi ile çökerek taşların oluşumuna neden olmaktadırlar.

I. Kalsiyum :

Böbrek taşlarının % 90'ı kalsiyum iyonu içermektedir. İdrarla atılan kalsiyum miktarı, kalsiyum alımına bağlıdır. Ayrıca hiperparatiroidizm, mutlak hareketsizlik gibi durumlarda da idrarla kalsiyum atılmasında artma olur. İdrarla kalsiyum atılması normalde 50-400 mg/24 sa. olarak belirtilmektedir.

Hiperparatiroidizm'de paratiroid hormonu fazla salgılanır. Bu da, vücudun kalsiyum ve fosfor metabolizmasını bozar. Sonuçta, hiperkalsemi, hiperkalsiüri, hiperfosfatüri ve hipofosfatemi'ye neden olur.

Mutlak hareketsizlik durumlarında, idrarın konsantre olması, böbrek kalıs ve pelvisinde idrar stazının oluşması ve kas aktivitesinin

azalması söz konusudur.

Kalsiyum okzalat, kalsiyum fosfat veya ikisinin karışımından oluşan taşı bulunan hastaların bir bölümünde kalsiyumun idrarla atılması normal sınırlar içindedir.

II. Okzalat :

Böbrek taşlarının 2/3'ünde bulunan bir anyondur. Okzalat vücutta askorbik asit ve gliokzalat metabolizmasının son ürünü olarak sentezlendikten sonra, metabolize olmadan böbrek tarafından atılmaktadır. İdrarla okzalik asit atılması normal erişkinlerde 20-55 mg/24 sa'dir. Okzalat taşı oluşumu, hiperokzalüri ile birlikte görülebilir.

III. Sistin :

Bir amino asit olan sistin normalde plazmada bulunmakta ve idrar ile 40-80 mg/24 sa düzeyinde atılmaktadır. Sistinüri olarak adlandırılan kalıtsal hastalıkta sistin yanı sıra lizin, arginin, ornitin amino asitlerinin de böbrek tübüllerinden geri absorblanmaları bozulmuş ve idrarla atılmaları artmıştır. Bu durum sistin taşlarının oluşumuna neden olmaktadır. Sistin taşlı hastalarda, sistin atılması 350-400 mg/24 sa'ı aşan düzeylere ulaşır.

IV. Ürik Asit :

Ürik asit pürin metabolizmasının bir ürünüdür. Böbrek taşlarının % 5-10 'unda bulunan ürik asit taşlarının oluşumundan üç faktör sorumlu tutulmaktadır :

- a) İdrarın asitliğinin artması,
- b) Kronik hiperürikozüri görülmesi ve urat atılmasının artması,

c) İlaçlara ve çevre faktörlerine bağlı dehidratasyon.

Plazmadaki üratın tamamı glomerüllerden süzülmekte ve % 92'si geri absorbe olmaktadır. Normalde idrarla atılan ürik asidin miktarı bir ölçüde diyet ile ilişkilidir. Pürin içeriği az bir diyet izlendiğinde, 300-500 mg/24 sa ürik asit idrarla atılırken, normal bir diyetle bu değer 400-800 mg/24 sa'e çıkmaktadır.

V. Ksantin :

Ksantin, nükleik asit metabolizmasının ara ürünü olup, idrarın normal bir bileşenidir. Ksantin taşlarının oluşumu, ksantinüri ile birlikte görülür. Normalde 5-20 mg/24 sa ksantin idrar ile atılır. Hipoksantin ksantine, ksantin ürik aside oksidasyonunu katalizleyen, ksantin oksidaz enziminin aktivitesinin kaybolduğu kalıtsal bozukluklarda ksantin idrarla atılması artar.

VI. Amonyak :

Magnezyum amonyum fosfat taşlarının yapısında yer alan amonyakın ortaya çıkışı veya idrardaki derişiminin artışı başlıca iki yol ile olmaktadır :

a) Asit-baz dengesinin korunması işlemleri sırasında böbrek tübüllerinden idrara verilmesi.

b) Bakteri varlığında, bakterilerdeki üreaz enzimi aracılığıyla idrar bileşeni olan ürenin parçalanması ile ortaya çıkması.

İdrar amonyakının fazlası amonyum iyonunun derişimini ve normalde hafif asidik (pH ~ 5.5) olan idrarın patolojik alkalizasyonunu arttırmakta ve magnezyum amonyum fosfat taşlarının çökmesine neden olmaktadır.

2- Normal kristalloid derişimindeki idrarda taş oluşumuna yol açabilen fizikokimyasal değişiklikler :

a) pH :

İdrar pH'sı, taşın çeşitli bileşenlerinin çözünürlüğünü değiştirmekte ve böylece taş oluşumunu olumlu veya olumsuz yönde etkilemektedir. Fosfat taşları alkali idrarda çözünmezler. Bu nedenle magnezyum amonyum fosfat taşlarına, saf halde veya fosfat taşları ile karışım halinde, sadece alkali idrarda rastlanır. Ürik asit ve sistin taşları asit idrarda çözünmezler, alkali idrarda ise tamamen çözünürler. Bundan dolayı alkali idrarda ürik asit ve sistin taşlarına rastlanmaz.

b) Matriks :

Bütün taşlar ortak organik bir matriks içerirler. Taş oluşumu idrarın inorganik ve organik bileşenlerinin bu matriks üzerine çökmesi ile gerçekleşir.

c) Staz :

Hareket halindeki bir sıvının durdurularak, bir yerde birikmesi olayı "staz" olarak bilinir. Bu olayın üriner sistemde oluşması, taş oluşumu ile bağıntılıdır. Bir taşın oluşmaya başlaması da, idrar akışını kısmen engelleyeceğinden, taşın büyümesine neden olur. Staz aynı zamanda, bakteri üremesi için de uygun bir ortam yaratır ve sonuçta idrarın alkali olmasına yol açar.

d) Koruyucu maddelerin eksikliği :

Bu maddelerin idrarda bulunmamaları taş oluşumuna yol açabilir. Önemli olan koruyucu maddeler aşağıda verilmiştir:

I- Magnezyum :

Magnezyum noksanlığı taş oluşumunda önemli rol oynar. Magnezyum, kalsiyum ve okzalatın idrarda çözünmesini kolaylaştırıp taş oluşumunu engeller.

II - Sitrat :

Sitrat, kalsiyum ile şelat yaparak taş oluşumunda rol alan kalsiyum tuzlarının çözünürlüğünü arttırır.

III-Pirofosfat :

Pirofosfat'ın fosfat kristalizasyonunda inhibitör etkisi vardır.

Taş oluşumunu etkileyen diğer faktörler :

1- Coğrafi faktörler :

Geri kalmış ülkelerde, ağır coğrafi koşullarda yaşayan kişilerde taş oluşum oranının sık oluşu, bu olayda genel hijyen, beslenme ve infeksiyon gibi etkenlerin de rol oynadığını düşündürmektedir.

2- Yaş :

10 yaşından aşağı çocuklarda % 1 oranında rastlanan böbrek taşı oluşumu, 30-50 yaşlar arasında en fazla görülmektedir. Kalıtımın okzalat ve urat taşlarındaki rolü büyüktür.

3- Cinsiyet :

Böbrek taşları erkeklerde, kadınlara oranla iki kat fazla görülür ve oturarak çalışan kişilerde taş oluşumunun görülme oranı da bedeniyle çalışan kişilerden fazladır.

4- Kolloidler :

Kolloidler idrarda kristalloidler ile süspansiyon oluşturup, onların çökmesine mani olurlar. Eğer kolloid dengesinde bir bozukluk olursa, eriyik halde bulunan tuzlar çöker. Bunun sonucu, mutlaka taş oluşmayıp kristalüri de görülebilir.

5- Çekirdek :

Epitelyum parçası, yabancı bir cisim, bakteri kitlesi, bir grup cerahat hücresi veya mukozanın ülserasyonu gibi etkenler taş oluşumunda rolü olan çekirdeği oluşturabilirler.

6- Randall plakları :

Böbrek papillasının lezyonlarında oluşan küçük kalsifiye odaklara "Randall plakları" denilir. Bunlar, taş oluşumuna neden olabilirler.

7- A vitamini eksikliği :

Bu vitaminin eksikliğinde, epitel keratinizasyonu görülür. Ortaya çıkan döküntüler, yabancı cisim rolü oynayarak, taş oluşumu için bir çekirdek oluştururlar.

8- D vitamini fazlalığı :

Aşırı miktarda D vitamini alınması, hiperkalsemiye neden olur. Uzun süren hiperkalsemi ise, böbrekte kalsiyumun çökmesi ve taş oluşumuna neden olur.

9- Enfeksiyonlar :

İdrar yolu enfeksiyonlarında, üreyi parçalayarak, amonyak oluşturan bakterilerin varlığı söz konusu olduğu için, kalsiyum fosfat ve karbonat taşları kolayca oluşabilir. İdrar, bakteriler için iyi bir kül-

tür ortamıdır. İdrar pH'sının düşük olduğu durumlarda bakteriler daha az üreyebilirler.

II.2.3. Böbrek Taşlarının Kimyasal Bileşimi (43,47,48):

Böbrek taşları ve taş hastalıkları, taşın kimyasal bileşimine göre sınıflandırılır:

1- Kalsiyum okzalat taşları :

Kalsiyum okzalat, böbrek taşlarında bulunan en önemli bileşiklerden biri olup monohidrat ve dihidrat tuzları şeklinde bulunur. Bir taşın yapısında, bu iki hidrate şekil birarada bulunuyorsa, taşın merkezinde monohidratlar, çevresinde dihidratlar yer almışlardır.

a) Kalsiyum okzalat monohidrat (Whewellite):

Böbrek taşlarında kalsiyum okzalat monohidrat, dihidrat şeklinden daha fazla bulunur. Basit yapıda düz, küçük ve hint tohumu şeklinde bir taş olup, idrarda kendiliğinden oluşur. Büyük miktarlarda bulunduğu ise, dut şeklinde görülmektedir. Bunlardan başka, kürecikler şeklinde olan diğer bir tipi de bulunmaktadır. Bu taşlar, monoklin kristal yapısı içerirler.

Genellikle grimsi-mavi renkli olan kalsiyum okzalat monohidrat taşları radyopak özelliktedirler. Taşın yapısında her çekirdek etrafında, merkezleri aynı olan katmanlar ve radyal çizgiler bulunmaktadır. Sertlik derecesi 2,5-3 olan bu taşların özgül ağırlığı 2,23'dür.

b) Kalsiyum okzalat dihidrat (Weddellite):

Bu taşlar genellikle, bitetragonal piramit veya zarf şeklinde kristaller halinde görülmektedir. Bu tip taşların, çekirdekleri bulunmadığından, gevşek bir yapı gösterirler. Renkleri soluk olup, sarıdan

kahverengiye kadar değişmektedir. Sertlik derecesi 4 olan bu taşların özgül ağırlığı 1,99'dur.

2- Fosfat taşları :

Fosfat taşlarındaki kompleks yapıları aydınlatmak için kimyasal yöntemlerin tek başına kullanılması yeterli değildir. Böbrek taşlarındaki fosfat, beş farklı yapıda bulunmaktadır. Bunlardan apatit ve magnezyum amonyum fosfat, taşların büyük bir kısmını oluşturur. Kalsiyum hidrojen fosfat, taşların % 1-2'sinde bulunur. Diğerleri ise, eser miktardadır. Fosfat içeren farklı taşları aşağıdaki şekilde gruplandırabiliriz:

a) Apatit (bazik kalsiyum fosfat) :

$Ca_3(PO_4)_2$ formülü ile gösterilen apatitten farklı olarak, karbonat-apatit [$Ca_{10}(PO_4,CO_3OH)_6(OH)_2$] ve hidroksil-apatit [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] şeklinde de bulunabilirler. Karbonat ve hidroksil apatitin kristal yapıları aynıdır. Bütün apatit türlerinin kristalleri hegzagonal olup mineraller de içermektedir. Genellikle beyaz, sarı-kahverengi veya kahverengidirler. Sertlik derecesi 5 olan bu taşların özgül ağırlığı 2.95-3.10'dur.

Karbonat apatitin, apatitten farkı, yalnız optik ve x-ışınları difraksiyon yöntemi ile belirlenebilmesidir.

b) Magnezyum amonyum fosfat heksahidrat (triple fosfat, struvite) :

Bu taşlar genellikle, apatit ile karışım halindedirler. Beyaz renkli olup, saf halde alkali idrarda oluşurlar. Bu tip taşların oluşumu, genellikle bakteri infeksiyonunun bir sonucudur. Bu taşların sertlik derecesi 2 olup, özgül ağırlığı 1,71'dir.

c) Kalsiyum hidrojen fosfat dihidrat (Brushite) :

Böbrek taşlarının % 2'den daha azında rastlanan bu yapıdaki taşlar, alkali idrarda oluşmazlar. Apatit ve kalsiyum okzalat monohidrat ile birlikte görülen bu taşlar çok yumuşak ve sarımsı-beyaz renktedirler. Sertlik derecesi 2-2,5 olup, özgül ağırlığı ise, 2,32'dir.

d) Trikalsiyum fosfat (Whitlockite):

Böbrek taşlarında eser miktarda bulunan, trikalsiyum fosfatın yapısı apatite benzemektedir. Kristal yapısı rombohedraldir. Sertlik derecesi 5 olan bu taşların özgül ağırlığı 3,12'dir.

e) Magnezyum-dibazik fosfat trihidrat (Newberyite):

Bu tip taşlar magnezyum amonyum fosfatın bozunması sonucu oluşurlar ve taş yapısında az miktarda bulunmaktadırlar.

3- Ürik asit taşları :

Ürik asit, böbrek taşlarının % 8-10'unda saf olarak bulunur. Sarı veya kahverengi olan bu taşlar, kalsiyum okzalat monohidrat veya apatit ile birleşerek taşların çekirdeğini oluşturabilirler. Ürik asit ortorombik kristal yapısı gösterip, en iyi molekül yarılmaya sahiptir. Sertlik derecesi 2,5 olan bu tip taşların özgül ağırlığı 1,89 dur.

Böbrek taşlarında ürik asidin, sodyum ve amonyum tuzları bulunmaktadır. X-ışınları difraksiyonu ile belirlenen bu tip taşlar çok yumuşak olup, plastik gibidirler. Beyaz-sarımsı renkli olan ürik asit taşları radyolusent özellik gösterirler.

4- Sistin taşları :

Böbrek taşlarının % 1-2'sinde saf halde bulunurlar. Bazen de apatitin çok küçük miktarları ile karışım halindedirler. İyi kristallenmiş hegzagonal prizma veya tabletlerin poröz agregatlarından oluşurlar. Asit idrarda bulunan bu taşlar, bal sarısından beyaza kadar değişen renk-

lerdedir. Sistin taşlarında, röntgen ışınlarının bir kısmı tutulmaktadır. Sertlik derecesi 2 olan bu tip taşların özgül ağırlıkları 2,06'dır.

5- Ksantin taşları :

Nadir olarak bulunan bu tip taşları, ürik asit taşlarından ayırmak zordur. Ksantin taşlarının kristal yapıları aydınlatılmamıştır.

6- Diğer taşlar :

Ayrıca SiO_4 radikali içeren silikat mineralleri, kolesterol, kalsiyum sülfat dihidrat, kalsiyum karbonat taş yapısına giren bileşikler arasındadır.

II.2.4. Böbrek Taşlarının Analiz Yöntemleri

II.2.4.1. Nitel Analiz Yöntemleri:

Böbrek taşlarının analizleri için, pek çok kimyasal leke testleri bulunmaktadır.

Winer ve Mattice (49), basit ve hızlı olarak nitel belirlemelerin yapılabilirdiği analizler ile fiziksel karakterleri ve ek testleri birleştirerek taşların analizini gerçekleştirmişlerdir.

Taşların inorganik ve organik bileşenlerinin birlikte analizinin yapılması için çalışan Kirby, Pelferey ve Rainey (50), birçok taş tiplerinin belirlenebilmesi için, bir analiz yöntemi geliştirmişlerdir. Bütün taşların içerdiği ana bileşenleri tanımışlar ve taşlarda, kalsiyum okzalat, kalsiyum fosfat, magnezyum amonyum fosfat, kalsiyum karbonat, ürik asit, sistin tiplerini belirlemişlerdir.

Zaidman ve Pinto (51), 1000 hastanın böbrek taşlarında kimyasal analizler yapmışlar ve taşların çoğunlukla kalsiyum okzalat ve kalsiyum fosfat karışımı olduklarını bulmuşlardır.

Kleeberg'de (52), taşların nitel analizini lam üzerinde uygulamış ve taşlarda kalsiyum, magnezyum, amonyum, fosfat, okzalat, ürik asit, sistin ve ksantin bileşenlerini belirlemiştir.

Holt ve Tarkony (53), böbrek ve safra taşlarının analizi için mikroanalitik yöntemlerden faydalanmışlardır. Klinik laboratuvarlarda kullanılan malzemeler ve bilinen tepkimeler yardımıyla, taşın katmanlarının ayrı ayrı analizini yapmışlardır. İdrar taşı hastalığında (gravel) küçük miktarlardaki ana yapıyı da aydınlatmışlardır.

II.2.4.2. Nicel Analiz Yöntemleri :

Hodgkinson (2), böbrek taşlarının kimyasal analizi için nicel ve nitel işlemleri birleştirerek, rutin kullanımdaki uygunluğunu ispatlamıştır. Bu işlem, kalsiyum, magnezyum, fosfat ve okzalatın nitel tanımları yanında, basit nicel testleri de içermektedir. Bulunan veriler, kalsiyum okzalat, apatit, magnezyum amonyum fosfat yapısındaki taşların bileşimini hesaplamada kullanılmıştır. Nicel analizde, kalsiyum, magnezyum, fosfat kolorimetrik ve atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile, okzalat permanganometrik titrasyon ile belirlenmiştir. Sonuçta taşların içeriği, kalsiyum okzalat, kalsiyum fosfat, kalsiyum okzalat-kalsiyum fosfat, magnezyum amonyum fosfat-kalsiyum fosfat ve ürik asit-kalsiyum okzalat olarak beş grupta toplanmıştır.

Değişik Asya ülkelerindeki taş tiplerinde de bu yöntemlere ek olarak, ürik asidin ürikaz ile enzimatik ve amonyağın kolorimetrik belirlenmesi yapılmıştır. Bu bölgelerde kalsiyum okzalatın en önemli bileşen olduğu, ayrıca magnezyum amonyum fosfat, amonyum urat, kalsiyum fosfat ve sistinin bulunduğu gösterilmiştir (54).

Nicholas (55), taşları 110°C de ısıttıktan sonra kül haline getirip gravimetrik analiz uygulamış ve taşın bileşimini nitel olarak belirlemiştir. Bu araştırmacı, taşların nicel analizinde kalsiyum ve okzalatı permanganometrik titrasyon ile, magnezyum, fosfat ve ürik asidi uygun kolorimetrik işlemlerle, amonyum ve protein azotunu Kjeldahl yöntemi ile, sistini, Na₂O₂ ergitimi ile, karbonatı Van Slyke volumetrik yöntemi ile belirlemiştir.

Leonard ve Butt (56), taşların kimyasal yöntemlerle nitel olarak tanınmalarından sonra, taşın % 1'lik çözeltisinden, kalsiyumu alev fotometrisi, okzalatı volumetrik, fosfat ve ürik asidi kolorimetrik yöntemlerle nicel olarak analiz etmişlerdir.

Kimyasal analize bağlı olarak nitel çalışmalar yapılarak taşların kalsiyum, magnezyum, fosfat ve okzalat bileşimi bulunabilmektedir. Ancak, Hodgkinson, Peacock ve Nicholson (57); kalsiyum ve magnezyum içeren taşlar için, daha özgül kimyasal analiz teknikleri uygulamışlar ve sonuçları, hastaların klinik belirtileri, idrarın bileşimi ve taşların ağırlıkları ile birlikte değerlendirmişlerdir. Kalsiyum ve magnezyum, atomik absorpsiyon spektrofotometrisi; okzalik asit fluorimetrik; fosfat ve sitrat kolorimetrik; amonyum mikrodistilasyon ve asit baz titrasyonu, sülfat

türbidimetrik, ürik asit ürikaz, toplam azot Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir.

Prien ve Frondel (47); yalnız kimyasal teknikler ile böbrek taşlarının analizinin zor olduğunu görerek, kimyasal analizde istenmeyen aşağıdaki hata kaynaklarını ortadan kaldırmışlardır. Hata kaynakları :

1- Taş çok küçük miktarlarda ise, kesin bir kimyasal analizinin yapılmasının zor olması,

2- Taşlardaki fosfatların karışık yapılarının yalnız kimyasal yöntemler ile belirlenememesi,

3- Bilinmeyen bileşimdeki organik maddelerin tepkimeleri etkilemesi sonucu, taş yapısının aydınlatılamaması,

4- Kimyasal test işlemlerinde yer alan tepkimelerin yapısında bozulmaların meydana gelmesidir.

Araştırmacılar, taşlara modern fiziksel yöntemler uygulayarak, bu hata kaynaklarının en aza indirgenebildiğini göstermişlerdir. Bu amaçla, polarize ışık ve x-ışınlarından faydalanılan yöntemleri kullanmışlardır. Çalışmalar sonucunda, taşların kristal bileşenlerinin % 36,1 saf kalsiyum okzalat, % 31 kalsiyum okzalat ve apatit karışımı, % 19,5 magnezyum amonyum fosfat heksahidrat-apatit karışımı ve % 4-6 ürik asit-sistin halinde olduğunu bulmuşlardır.

Sutor ve arkadaşlarının (58), kristallografik taş analizi için önerilen yöntemleri tartışarak x-ışınları ile optik kristallografiyi kullandıkları ve % 20-30 oranındandaha az miktarda bulunan taş bileşenlerinin

analizinin, ancak bazı düzeltici faktörler yardımıyla yapılabileceğini gösterdikleri anlatılmıştır.

Yapılmış olan optik kristallografik taş bileşiminin aydınlatılmasına ek olarak Elliot (59), binoküler stereoskopik mikroskop altında da çalışmalar yapmıştır. Bu yolla, taşlar tabakalarına ve kısımlarına ayrılarak analiz edilebilmektedirler. Ayrıca polarize mikroskop altında petrografik araştırmalar ile taşların mikro incelenmesi sonucu, yapının 2/3'ünde kalsiyum okzalat monohidrat kristallerinin yer aldığı görülmüştür. Bu çalışmalarda kalsiyum okzalat monohidratın ikincil olarak çöktüğü, apatitin ise taş oluşumunda ve büyümesinde önemli bir rolü olmadığı ortaya konulmuştur.

Tsay (60), taşların mineral içerikleri, inorganik ve organik bileşiklerinin, kısa zamanda analiz edilebilmesi için IR spektroskopisini ideal bir yöntem olarak önermiştir. IR spektrumunun, moleküler yapı aydınlatılmasındaki etkinliğinin saptanmasından sonra, IR spektroskopisi maddelerin belirlenmesinde kullanılmıştır. Kalsiyum okzalat monohidrat, kalsiyum dihidrojen fosfat dihidrat, magnezyum amonyum fosfat, trikalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat, ürik asit, sistin, ksantin, kalsiyum okzalat-trikalsiyum fosfat, kalsiyum okzalat-magnezyum amonyum fosfat, kalsiyum karbonat-magnezyum amonyum fosfat, kalsiyum okzalat-ürik asit taşlarının nicel analizleri IR spektroskopisi ile yapılmıştır.

Karışım halindeki taşların IR spektrumu, her bir bileşen için ayrı ayrı karakteristik bantlar göstermekte ve karışımda bu bantlar deği-

memektedir. Genellikle taş analizi için KBr disk yönteminin kullanıldığı IR spektroskopisi ile yapılan çalışmalar sonucu, taşların % 69,7'sinin birden fazla bileşen içerdiği ve % 29,7'sinde ise, tek bir bileşenin bulunduğu görülmüştür.

IR spektroskopisi ile yapılan nicel analizde, ilk olarak farklı derişimlerde saf kimyasal maddelerle hazırlanan karışım halindeki taşların, spektrumu alınarak ayırım için yüzde geçirgenlik ve karakteristik bantların alanı ölçülmüştür. Hazırlanan bu standart spektrada, derişimin artması ile bantların yüzde geçirgenliğinde azalma, bant alanında artma olduğu görülmüştür. Nicel analizin sonuçlandırılmasında, bilinen bileşimdeki taşın spektrumu alınarak, aynı bileşimde hazırlanmış olan standart spektra ile karşılaştırılmakta ve uygun gelen bileşimin oranı belirlenmektedir. Bu yöntem kesin olmamakla birlikte, taşların karışım oranlarını bildirmede yeterli olmuştur.

Pollack ve Carlson (61), böbrek taşlarının tanınmaları için, x-ışınları difraksiyon ve IR tekniklerini birleştirmişlerdir. X-ışınları difraksiyonunun, rutin analizde minör yapı taşlarının belirlenmesinde daha duyarlı olduğu, ancak tam analiz istendiğinde IR ve diğer tekniklerin kullanılması gerektiği sonucuna varmışlardır.

Beeler, Veith, Morris ve Biskind (62), böbrek taşlarını çeşitli yöntemler kullanarak analiz etmişlerdir. Hastalardan çıkarılan taşları kimyasal yöntemler ve x-ışınları difraksiyonu ile nitel ve nicel olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, IR spektroskopisi, elektron difraksiyonu ve elektron mikroskopisi, optik analiz ve termoluminesans yöntemleri ile çalışmalar yapmışlardır. Sonuçta, okzalit için kimyasal testlerin, IR ve

x-ışınları difraksiyonundan daha az duyarlı olduğunu; apatit çok küçük kristaller içerdiğinde sonuçların, difüzleneren x-ışın difraksiyonu ile zayıf çizgiler verdiğini; ayrıca apatitin taş bileşiminde % 10'dan az bulunduğunda x-ışınları difraksiyonu ile belirlenemeyeceğini göstermişlerdir.

Magnezyum ve amonyum için kimyasal testlerin, çok duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.

Okzalit bileşimi, sadece nitel analiz ile belirlenebilmiştir. Taş 4-5 mg'dan küçük ise kimyasal yöntemin uygulanması zor olmuş ve taş ağırlığı 1 mg civarında olduğunda, x-ışınları difraksiyonu kullanılıp, yarı-nicel sonuçlar elde edilebilmiştir.

IR ile analizi yapılmayan ksantin, kimyasal yöntemlerle, ürik asit ise x-ışınları difraksiyonu ile belirlenmiştir. Apatit ve amonyum da x-ışınları difraksiyonu tarafından kimyasal olarak analiz edilmişlerdir.

Taşların, polarize ışık kullanarak yapılan immersiyon yöntemi ile analizleri uygun değildir. Çünkü taşlar yeterli derecede yarı-saydam olduklarında normal mikroskop ile de tanınabilirler. Elektron mikroskopisinin de rutin analiz için kullanışlı olmadığı belirtilmiştir (62).

Termoluminesans analizi ile sadece apatit belirlenebilmekte ise de rutin kullanımı olanaksızdır. Hastalardan toplanan taşların differansiyel termoluminesans ile analizleri yapılmıştır (63).

Ayrıca, kalsiyum okzalit monohidrat ve dihidrat taşlarındaki, eser elementler kütle spektrometresi kullanarak analiz edilmiş ve 55 element belirlenmiştir. Bunlardan 22'si nicel olarak tayin edilmiş ve taşlarda eser element analizinin önemi belirtilmiştir (64).

Eser metal iyonlarının analizi emisyon spektroskopisi yöntemi ile de yapılmış ve bunların kalsiyum okzalat ile kalsiyum fosfatın kristal büyümesinde yavaşlatıcı etkisinin olduğu görülmüştür (65).

DENEYSEL KISIM

III.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler :

- 1- Sodyum dietilditiyokarbamat (Sigma)
- 2- 8-hidroksikinolin (Merck)
- 3- Kalsiyum klorür, anhidr (Merck)
- 4- Magnezyum klorür, heksahidrat (Merck)
- 5- Amonyum klorür (Merck)
- 6- Disodyum EDTA (Merck)
- 7- Gümüş nitrat (Yerli)
- 8- Kuinalizarin (BDH)
- 9- Difenil karbazit (BDH)
- 10- Eriokrom siyahı T (Merck)
- 11- Amonyum molibdat (Merck)
- 12- Müreksit (Riedel)
- 13- Kalkon (BDH)
- 14- Kalsiyum karbonat (Merck)
- 15- Benzidin (Riedel)
- 16- Okzalik asit (Merck)
- 17- Potasyum permanganat (Rhone-Poulenc)
- 18- Mangan sülfat, monohidrat (Riedel)
- 19- Triklorasetikasit (Merck)
- 20- Potasyum iyodür (Canada)
- 21- Cıva (II) klorür (Merck)
- 22- Sodyum hidroksit (Merck)

- 23- Polivinil alkol % 99-100 (Hidrolize) (J.T. Baker Chemical)
- 24- Potasyum hidrojen fosfat (Merck)
- 25- Potasyum okzalat (Analar)
- 26- Titan sarısı (BDH)
- 27- Dietileter (Merck)
- 28- Nitrik asit (Merck)
- 29- Asetik asit (Merck)
- 30- Sülfürik asit (Merck)
- 31- Hidroklorik asit (Merck)
- 32- Amonyak (Merck)
- 33- Metil alkol (Merck)
- 34- Etil alkol (yerli)
- 35- Toluol (Riedel)

III.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- 1- Halka-Fırın cihazı (Trace Ring-Oven)
- 2- UV-görünür bölge spektrofotometresi (DB-GT Beckman Instruments GmbH Munich Germany)
- 3- Yazıcı (Beckman 10⁴)
- 4- UV-görünür bölge spektrofotometresi, (Pye-Unicam, SP-1700)
- 5- Yazıcı, (Pye-Unicam, AR-25)
- 6- Kolorimetre (Spectronic 20, Baush and Lomb)
- 7- pH metre (Model 12 Corning. Corning Scientific Instrument, New York, U.S.A.)
- 8- pH metre cam elektrodu (Corning)
- 9- pH metre referans elektrodu (Corning)
- 10- Manyetik karıştırıcı (Model MK 20 Nüve)
- 11- İletkenlik köprüsü (Model 31, Yellow Spring Instruments Co., Inc., Ohio, U.S.A.)
- 12- Etüv (Model 5169 MAS, Laborteknik)
- 13- Santrifüj (Model T5, Janetzki)
- 14- Duyar terazi (H 20 Mettler Instrument Corporation Princeton N.J., U.S.A.)
- 15- Otomatik mikro pipet 30 µl (Model Sigma)
- 16- Otomatik mikro pipet 5 µl ve 100 µl (Model Eppendorf)
- 17- Çeşitli boy Pyrex^R balon joje, pipet ve büretler
- 18- Süzgeç kağıdı, 11 cm (Whattman 41)
- 19- Adborban kağıt (BDH)

III.3. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Bu araştırmada kullanılan taş ve idrar numuneleri Hacettepe Üniversitesi Üroloji Ana Bilim Dalı'ndan temin edilmiştir.

Havanda toz haline getirilmiş olan taş numunesinin 10 mg'ı 5 ml % 10'luk HCl'de çözülerek taş çözeltileri hazırlanmıştır.

Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı şu şekildedir.

- 1- %01'lik sodyum dietilditiyokarbamat çözeltisi: 1 g sodyum dietilditiyokarbamat alınıp, su ile 1 litreye tamamlanır.
- 2- 8-hidroksikinolin çözeltisi: 2 g 8-hidroksikinolin 6 ml asetik asitle çözülür. 10 ml su ve 6 ml 15.N amonyak eklenip, hacmi su ile 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözeltinin pH'sı 5.10 olur.
- 3- Standart kalsiyum çözeltisi: 27.692 mg susuz CaCl_2 alınıp, su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- 4- Standart magnezyum çözeltisi: 83,6 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ alınıp, su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- 5- Standart fosfat çözeltisi: 0,0367 g KH_2PO_4 alınıp su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- 6- Standart okzalat çözeltisi: 0,208 g $(\text{KCOO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ alınıp su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- 7- Standart amonyum çözeltisi: 0,03 g NH_4Cl alınıp, su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- 8- % 80'lik etil alkol.
- 9- Dietileter-etanol çözeltisi (1:1).
- 10- pH 10.10 Tamponu: 0,675 g NH_4Cl üzerine 5,7 ml derişik amonyak ilave edilir ve su ile 100 ml'ye tamamlanır.

11- 0,1 N Gümüş nitrat çözeltisi: 0,42467 g AgNO_3 alınıp, su ile 25 ml'ye tamamlanır.

12- 10 N HNO_3 çözeltisi : Az miktar su üzerine 35,7 ml derişik HNO_3 konulup, su ile 50 ml'ye tamamlanır.

13- 2 N HNO_3 Çözeltisi : Az miktar su üzerine 3,57 ml derişik HNO_3 eklenip, su ile 25 ml'ye tamamlanır. Ayrıca 10 N HNO_3 'in seyreltilmesi ile de hazırlanır.

14- 0,1 N potasyum permanganat çözeltisi: 3,2 g KMnO_4 alınıp, 1 lit-re suda çözüldükten sonra ısıtılır ve kaynama sıcaklığında 1 saat tutulur. Bir gece bekletildikten sonra cam pamuğundan süzülerek, koyu renkli şişede ışıktan korunarak saklanır.

15- 0,01 N EDTA çözeltisi: 37,2 g disodyum EDTA alınıp su ile 1 lit-reye tamamlanır.

16- Mangan sülfat çözeltisi : 5 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ alınıp, su ile 100 ml'ye tamamlanır.

17- Polivinil alkol çözeltisi: 0,025 g % 100'luk hidrolize polivinil alkolden alınıp su ile 25 ml'ye tamamlanır. İyice çalkalanır ve gerekirse hafifçe ısıtılır.

18- Triklorasetikasit çözeltisi : 5 g CCl_3COOH alınıp, su ile 100 ml'ye tamamlanır.

19- 4 N NaOH çözeltisi: 40 g NaOH alınıp, 250 ml'ye su ile tamamlanır. Bu çözelti seyreltilerek düşük derişimlerde de hazırlanmaktadır.

20- % 10 HCl çözeltisi : 31,6 ml derişik HCl çözeltisi az miktar suya ilave edilip, 100 ml'ye su ile tamamlanır.

21- Magnezyum iyonun tanınması için kullanılan renk belirteçleri:

a) Kuinalizarin : 2,5 mg 1,2,5,8,tetrahidroksiantrakinon (Kuinalizarin) alınıp, 0,1 N NaOH ile 10 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti

ışıktan korunarak ve buzdolabında saklandığında 10 gün dayanıklıdır.

b) Titan sarısı : 25 mg 2-2'-(diazamino)-di-p-fenilen] bis [6-metil-7-benzotiazolsülfonik asit] (titan sarısı) tartılıp, su ile 25 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti koyu kahverengi kaplarda saklandığında en az üç ay dayanıklıdır.

22- Kalsiyum iyonunun tanınması için kullanılan renk belirteçleri :

a) Difenil karbazit : 0,5 g Bis-(fenilhidrazido)-formik asit (difenikarbazit) alınıp, 50 ml'ye etanol ile tamamlanır.

b) Müreksit : 4 mg 5-5'nitrilodibarbitürik asit amonyum tuzu (müreksit) 7,5 ml suda çözülür. Bu noktada gerekirse süzülür ve 17,5 ml etanol eklenir. Bu çözeltinin, buzdolabında saklandığında 3 ay bozulmadığı görülmüştür.

c) Kalkon : 98,35 mg [1-(1-hidroksi-2-naftilazo)-2-hidroksi-4 naftalen sülfonik asit] (kalkon) üzerine 200 ml metanol ilave edilip, 2 saat çalkalanır veya çözelti homojen olana kadar beklenir. Metanol ile 250 ml'ye tamamlanır.

23- Kalsiyum ve magnezyumun bir arada tanınmalarında kullanılan belirteç:

Eriokrom siyahı T : 25 mg [1-(1-hidroksi-2-naftilazo)-2-hidroksi-5-nitro-4 naftalen sülfonik asit] (erikrom siyahı T) alınıp, metanol ile 10 ml'ye tamamlanır.

24- Fosfat iyonunun tanınması için kullanılan belirteçler :

a) Amonyum molibdat çözeltisi: 3,5 g amonyum molibdat üzerine 75 ml su ve 25 ml derişik HNO₃ eklenir.

b) Benzidin asetat çözeltisi : 50 mg benzidin alınıp, %10'luk asetik asit ile 100 ml'ye tamamlanır.

25- Amonyum iyonunun tanınması için kullanılan belirteç :

Nessler belirteci : 5 g KI 5 ml suda çözülür, derişik $HgCl_2$ çözeltilisinden çökelek oluşuncaya kadar eklenir. Üzerine 20 ml 6N NaOH ilave edilip su ile 100 ml'ye tamamlanır. Karışım bir gece bekletildikten sonra süzülür.

Bütün çözeltilerin hazırlanmasında, deiyonize üç defa damıtılmış su kullanılmıştır. Bidistile su, kuvvetli anyon ve kasyon değiştirici reçinelerin bulunduğu kolondan geçirilip deiyonize edilmektedir. Daha sonra içerisinde seyreltik $KMnO_4$ çözeltisi bulunan balonda damıtılan su iki defa daha damıtılıp bir kapta toplanmaktadır. Bu işlemler sonucu elde edilen suyun iletkenliğinin 1 μmho 'dan küçük olduğu görülmüştür (66).

III.4. Kullanılan Yöntemler ve Deneyler

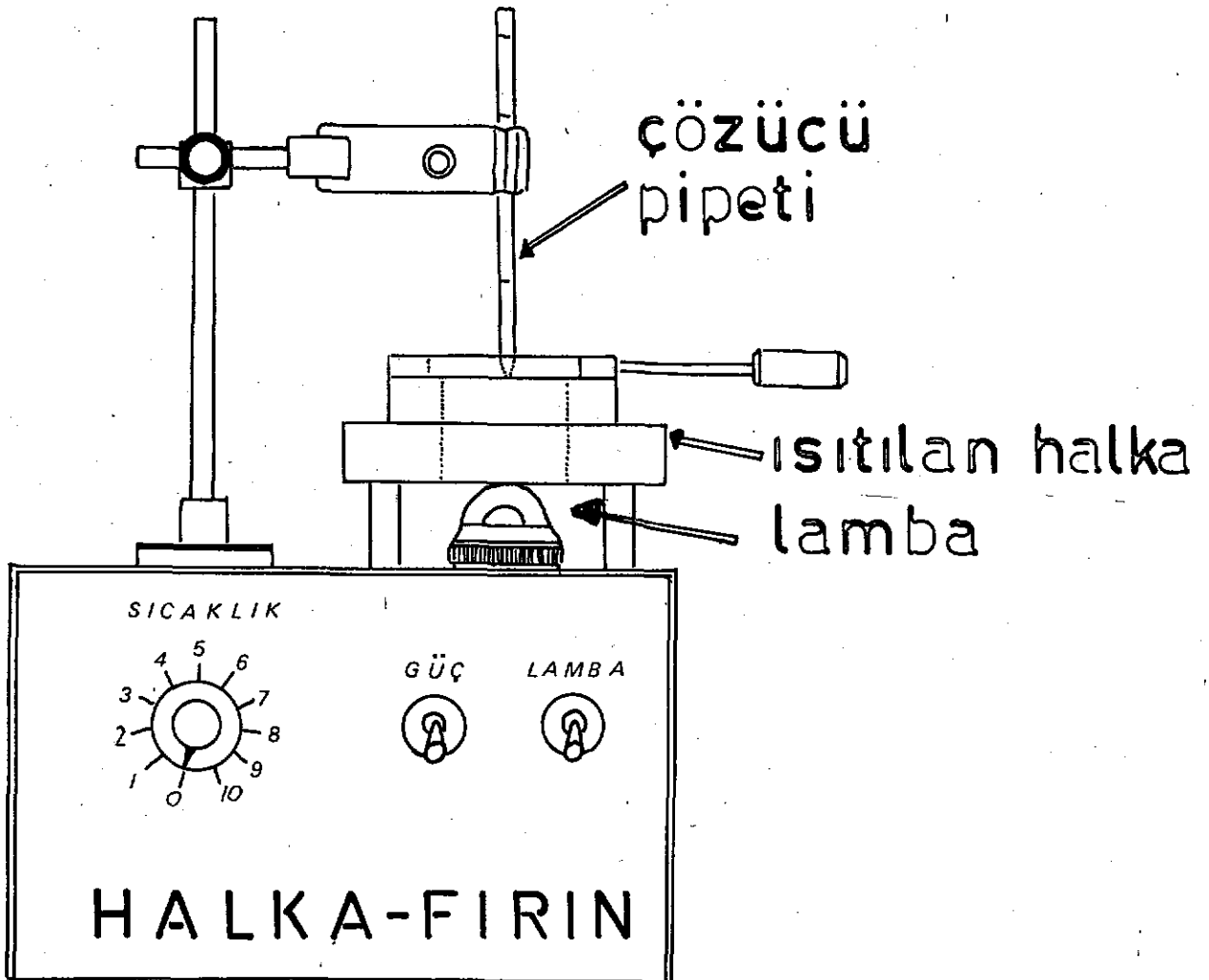
III.4.1. Halka-Fırın Yöntemi

III.4.1.1. Halka-Fırın Cihazı:

Şekil 3'de halka-fırın cihazı görülmektedir. Halka-fırın cihazının ana kısmını, 40 mm yükseklik ve 70 mm genişlikte alüminyumdan yapılmış silindirik bir blok oluşturur. Bu silindirin ortasında 22 mm çaplı bir boşluk bulunmaktadır. Cihaz üzerinde bulunan bu boşluğun altındaki lamba, çalışma süresince numunenin aydınlatılmasını sağlar. Ana kısımdaki otomatik transformatör voltaj girişini kontrol ederek, blok yüzeyindeki sıcaklığın 80-115°C arasında ayarlanmasını sağlar.

Pipetler, cihaza sabit olarak yerleştirilmiş alüminyum destek üzerindeki pipet tutucu cam tübe takılırlar. 50 mm uzunluğunda olan tübün yüksekliği ayarlanabilir olup, blok yüzeyinden 2-3 mm yukarıda ve boşluğun tam merkezinde olmalıdır.

Süzgeç kağıdı, elektrikle ısıtılan halkaya yerleştirilip, üzerine halka şeklinde metalik bir ağırlık konarak sabitleştirilir. Süzgeç kağıdının altına, değişik çapta adaptörler konarak, 1 cm çapında veya daha ufak lekeler elde edilebilir. Çözcüler, pipetler vasıtasıyla, süzgeç kağıdının tam ortasına damlatılır.



ŞEKİL 3. Halka - fırın cihazı

III.4.1.2. Halka-Fırın Yönteminin Böbrek Taşlarına Uygulanışı :
Böbrek taşlarının yapısına girebilecek katyon ve anyonların, halka-fırın yöntemi kullanarak analizlerinin yapılmasında duyarlılığı arttırmak için bölüm II.1.3'de anlatılan disk yönteminden faydalanılmıştır.

Katyonlar ve anyonlar için ayrı analizler uygulanmıştır. Kalsiyum ve magnezyumun nicel belirlenmeleri yapılarak, taş yapısını oluşturan

miktarları hakkında bilgi verilebilmiştir.

Katyonların aranmasında, diske damlatılan taş çözeltilisinden ilk önce magnezyum, magnezyum-kinolinat halinde çöktürülüp, süzgeç kağıdına yıkanarak halka şeklinde toplanmıştır. Halkaya renk belirtecinin ilavesi ile oluşan rengin görülmesiyle nitel analiz sonuçlanmıştır. Renkli halkanın, standart halkalarla karşılaştırılması bölüm III.4.1.3'de anlatıldığı şekilde yapılarak magnezyumun miktarı belirlenebilmektedir.

Numune çözeltilisinin emdirilmiş olduğu yukarıdaki diskten, ikinci olarak kalsiyum, kalsiyum-dietilditiyokarbamat halinde çöktürülür. Süzgeç kağıdına yıkandıktan sonra halkada toplanan kalsiyum için renk belirteci ilave edilerek, oluşan renk standart halkadaki renklerle karşılaştırılıp, taşın yapısına giren kalsiyum miktarı hesaplanmıştır.

Anyonların aranmasında, diske taş çözeltilisinden bir damla damlatılmıştır. Gümüş nitrat ilavesi ile fosfat ve okzalat anyonları gümüş tuzları halinde çöktürülmüştür. Çökeleği sabitleştirmek için etanol ilavesinden sonra yeni süzgeç kağıdına fosfat yıkanarak ayrılmış, daha sonra aynı diskte hidrojen iyonu derişimi değiştirilerek okzalatın ayrılması sağlanmıştır. Her iki anyon için de özel reaktiflerin ilavesi ile renkli halkalar elde edilerek analizleri yapılmıştır.

Taş çözeltilerinde, amonyum belirlenmesi için ayrı bir yol izlenmiştir. Süzgeç kağıdına çözeltiden bir damla damlatılmış, sodyum hidrok-sit ile yıkanarak, amonyumun halkada birikmesi sağlanmıştır. Özel reaktifin ilavesi ile amonyumun analizi yapılmıştır.

Analizler esnasında, halka-fırın cihazı üzerine yerleştirilen iki değişik çaptaki adaptör ile, deneyler yapılmıştır. Küçük çaplı adaptör ile elde edilen halkaların, büyük çaplıya göre iyi sonuç vermediği görül-

düğünden, araştırmalarda 22 mm çapındaki adaptör kullanılmıştır.

Sıcaklık ayarlanmasının yapılabilidiği on ayrı derecede deneyler uygulandıktan sonra, verimin ve hızın 110°C'de en iyi olduğu saptanmıştır. alışmalar süresince sıcaklığın değişmemesine özen gösterilmiştir.

Deneyler, Whattman 40,41 ve 42 numaralı süzgeç kağıtları ve kağıt kromatografisinin uygulandığı kağıtlar kullanılarak denenmiştir. Çalışmalarda en olumlu sonuçların alındığı Whattman 41 numaralı süzgeç kağıdı deneylerde kullanılmak üzere seçilmiştir.

Belirlenecek iyonlar, özellikle katyonlar için, pek çok renk belirteçleri denenerak ilerinden en belirgin ve kararlı renk verenler seçilmiştir. Deneyler her bir katyon ve anyon için en az üç kez yapılmıştır.

III.4.1.2.1. Standart özeltilerin Hazırlanması ve Standart-Skalanın Oluşturulması :

Standart özeltiler hazırlanmadan önce, bugüne kadar taşlar üzerinde yapılan analiz çalışmalarının sonuçları araştırılmıştır. Taşlarda iyonların bulunabilecekleri en düşük ve en yüksek miktarları içine alabilen bir standart skalanın oluşturulmasına çalışılmıştır.

Bu amaçla, bölüm III. 3' de hazırlanışı belirtilen standart kalsiyum çözeltilisi, 1 ml de 0,1 mg kalsiyum bulunacak şekilde yapılmıştır. Taş bileşimindeki magnezyum miktarlarının daha düşük olduğu göz önüne alınarak, standart magnezyum çözeltilisi, 1 ml de 0,05 mg magnezyum olmak üzere hazırlanmıştır.

Kalsiyum ve magnezyum için standart skalanın oluşturulmasında, iki katyonun standart çözeltilerinden 10'ar ml alınıp, karıştırılmıştır. Bu

karışımdan değişik hacimler alınarak, farklı standart çözeltiler elde edilmiştir.

Standart çözeltilerin analizine başlamadan önce, halka-fırına yerleştirilen süzgeç kağıdının üzerine lamel konulmuş, adsorban kağıttan 2 mm çapında hazırlanan disk bu lamel üzerine yerleştirilmiştir. Bundan sonra, standart çözelti karışımından 15 µl alınarak diske tatbik edilmiştir. Üzerine 3 damla 8-hidroksikinolin çözeltisinden damlatılmıştır. Tüm işlemler sırasında bir önceki damla kurumadan ikincinin damlatılmasına özen gösterilmiştir. Disk, lamel üzerinden alınarak süzgeç kağıdının ortasına yerleştirilmiş ve magnezyum katyonu için %80'lik etanol ile yıkama yapılmıştır. Yıkama işlemi sekiz kez tekrarlandıktan sonra disk kaldırılmış ve üç kez daha yıkanmıştır. Son olarak halkaya kuinalizarin belirteci ilave edilerek, magnezyumu gösteren mavi renk elde edilmiştir.

Kalsiyumun belirlenmesi için ilk olarak halka-fırına temiz bir süzgeç kağıdı sabitleştirildikten sonra kağıdın üzerine konulan lamele yukarıdaki disk yerleştirilmiştir.

Diske sodyum dietilditiyokarbamat çözeltisinden 3 damla ilave edilmiştir. Kalsiyum lamel kaldırıldıktan sonra, süzgeç kağıdının üzerine konan diskten, dietileter-etanol karışımı ile kenarlara doğru yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra oluşan halkaya, difenilkarbazit belirteci ilave edilerek, kalsiyumu gösteren kırmızı renk elde edilmiştir.

Aynı işlemler standart çözelti karışımından 30, 60, 120, 240, 300 µl alınıp tekrarlanarak, oluşan renklerin şiddetinde artış görülmüştür.

Standart çözeltilerin bu analizleri sonucunda, 0.75, 1.5, 3.0, 6.0, 12.0, 15.0 µg kalsiyum ve 0.375, 0.75, 1.5, 3.0, 6.0, 7.5 µg magnezyum iyonu içeren halkalar elde edilmiştir. Bu halkalar, taş numune analizlerinin 30 µl çözelti alınarak yapıldığı göz önünde bulundurulurken tekrar ikinci bir yol ile hazırlanmışlardır. 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.0 mg/ml kalsiyum ve 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5 mg/ml magnezyum iyonu içeren standart çözeltiler oluşturulmuş ve bu çözeltilerden 10'ar ml alınarak oluşturulan karışımdan 30 µl ile analiz yapılmış ve yukarıdaki kalsiyum ve magnezyum miktarlarını veren halkalar elde edilmiştir.

Tek bir standart çözeltiden hareket edilerek çeşitli derişimlerde standartların hazırlanması, halka-fırın yönteminde büyük kolaylıklar sağladığından tercih edilen ve kullanılan bir yoldur. Burada denenen ikinci yol, böbrek taşlarına uygulanan işlemler göz önüne alınarak madde miktarına geçiş sağlanması amacıyla kullanılmıştır. Örnek olarak kalsiyum iyonu için standart hazırlanmasındaki hesaplamalar Tablo 1'de gösterilmiştir. Magnezyum iyonu için de aynı hesaplamalar ile standartlar hazırlanmıştır.

TABLO 1. Kalsiyum iyonu için yapılan standart hesaplamalar

Standart çözelti hazırlamada I.Yol		Standart çözelti hazırlamada II.Yol		Standart çözeltilerdeki madde miktar (µg)	Standart numarası
Çözelti derişimi (mg/ml)	Hacim (µl)	Çözelti derişimi (mg/ml)	Hacim (µl)		
0.1	15	0.05	30	0.75	6
0.1	30	0.1	30	1.5	5
0.1	60	0.2	30	3.0	4
0.1	120	0.4	30	6.0	3
0.1	240	0.8	30	12.0	2
0.1	300	1.0	30	15.0	1

Taş yapısında yer alan anyonlardan fosfat ve okzalatin nitel analizleri yapılmış, nicelikleri hakkında genel bir fikir verilebilmiştir. Bu amaçla, bölüm III.3' de hazırlanışı belirtilen potasyum fosfat ve potasyum okzalat çözeltilerinden 10'ar ml alınarak karıştırılmış ve anyon standart çözeltisi elde edilmiştir.

Anyonların tanınmasında, süzgeç kağıdının üzerindeki lamele yerleştirilen diske anyon standart çözeltisinden 30 µl tatbik edilerek üzerine 4 damla gümüş nitrat çözeltisi ilave edilmiştir. Çökeleğin diskte sabitleşmesi için 1 damla etanol eklenmiştir. Disk, lamel kaldırıldıktan sonra süzgeç kağıdına yerleştirilmiş ve fosfat anyonu için 2N HNO₃ çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra 3 kez amonyum molibdat çözeltisi ve bir kez de benzinin asetat belirteci ilave edilmiştir. Süzgeç kağıdı kuruduktan sonra amonyak buharlarına tutulunca fosfatı gösteren molibden mavisi rengi elde edilmiştir.

Aynı disk yeni bir süzgeç kağıdının üzerine yerleştirilip 10 N HNO₃ çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama sonunda, halkaya potasyum permanganat çözeltisi damlatıldığında, sadece halkada permanganata ait pembe rengin kaybolduğu görülerek okzalat belirlenmiştir.

Standart çözeltiden analiz sonucu 0.1 mg/ml fosfat içeren renkli halka oluşturulmuştur. Bu halkanın en az iki ay dayanıklı olduğu görülmüştür.

Okzalat için, oluşan halkadaki renk kaybı ile bir miktar belirlemesine gidilemediğinden, sadece nitel analiz yapılmıştır.

Taş yapısında bulunabilecek amonyum katyonunun belirlenmesi amacıyla, amonyum klorür çözeltisinden hazırlanan standart ile analiz yapılmıştır.

Amonyum analizinde, standart çözeltiden alınan 30 µl, süzgeç kağıdının üzerine doğrudan yerleştirilen diske tatbik edilmiştir. Sonra 0,1 N NaOH ile yıkanarak, halkada amonyumun toplanması sağlanmıştır. Nessler belirtecinin halkaya ilavesi ile, amonyumu gösteren turuncu renk oluşmuştur.

Sonuçta elde edilen 0,1 mg/ml amonyum içeren standart halkanın bir ay kadar dayanıklı olduğu bulunmuştur.

Böbrek taşı hastalarından ameliyat ile çıkarılmış olan taş numunelerinin çözeltileri bölüm III.3'de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden 30 µl alınarak kalsiyum, magnezyum, fosfat, okzalat ve amonyum iyonlarının analizleri yukarıda anlatıldığı şekilde halka-fırın yöntemi ile yapılmıştır. Her taş numunesi için bu analiz işlemi en az üç defa tekrar edilmiştir. Sonuçlar standart halkalarla karşılaştırma ve ek 1'de belirtilen hesaplamalar ile alınmış ve temel istatistik yöntemler ile değerlendirilmiştir.

Böbrek taşlarının yapısında bulunan kalsiyum ve magnezyum iyonları için nitel belirleme yanında, standart halkalarla karşılaştırma yapılarak nicel sonuçlar da alınabilmektedir. Amonyum ve fosfat iyonları için de bir tek standart halka ile karşılaştırma sonucu 0,1 mg/ml'den az veya çok oldukları hakkında bilgi edinilmiştir. Okzalat iyonu için sadece nitel belirleme yapılmıştır.

III.4.1.3. Halka-fırın Yöntemi ile İdrarda Yapılan Çalışmalar:

Taş hastalarından 24 saatlik idrar numuneleri, içinde 1 ml toluol olan temiz bir kaptaki toplanmıştır. 2 ml idrar numunesine % 5'lik triklorasetik asitten 10 ml ilave edilip, iyice çalkalanmış, 5-10 dakika bekletildikten

sonra Whattman 40 süzgeç kağıdından süzülmüştür. Süzüntüde halka-fırın yöntemi ile kalsiyum, magnezyum, amonyum, fosfat ve okzalat iyonları belirlenmiştir.

Aynı işlemler, kontrol grubu olarak normal (taşı olmayan) kişilerde de yapılmış ve taşlı hastaların idrarlarından elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

III.4.2. Titrimetrik Yöntemler ile Yapılan Analizler:

Taşların yapısında bulunan kalsiyum, magnezyum ve okzalat iyonları halka-fırın yöntemi ile analiz edildikten sonra titrimetrik yöntemler ile de belirlenmiştir. Her iki yöntemle elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak, yorum yapılmıştır.

Kalsiyum ve magnezyum için kompleksometrik, okzalat için permanganometrik titrasyonlar uygulanmıştır.

III.4.2.1. Kompleksometrik Titrasyon:

Kalsiyum ve magnezyum iyonlarını bir arada içeren çözeltilerde direkt kompleksometrik titrasyon ile toplam miktar bulunmaktadır (4,67-73). Miktarlarının ayrı ayrı bulunabilmesi için, kalsiyum, amonyum okzalat ile kalsiyum okzalat halinde çöktürülmüş ve süzülüp, ayrılmıştır (67). Çözeltide kalan magnezyum, eriokrom siyahı T belirteci eklenerek EDTA titrasyonu ile bulunmuştur (68,69). Süzülen kalsiyum okzalat çökeleği hidroklorik asitte çözülüp, müreksit belirteci eklenerek yine EDTA titrasyonu ile belirlenmiştir (70).

Ancak bu işlemde, kalsiyum okzalat çökeleğinin çok ince taneli oluşu ve sonuçta ayırımın zor olması nedeniyle çalışmalarımızda kalsiyum,

okzalat halinde çöktürülmemiştir. Kalsiyumun, molibdat ile çöktürülmesinden sonra magnezyumun analiz edilmesi de denenmiştir (71). Fakat kullanılan belirteç ile renk değişimi kesin olarak sağlanamadığından bu yöntem de uygulanmamıştır.

Kompleksometrik titrasyon ile taş çözeltilerindeki kalsiyum ve magnezyum iyonları bir arada analiz edilerek, toplam miktar hesaplandıktan sonra magnezyumun hidroksit halinde tutulması sağlanarak kalsiyumun nicel analizi yapılmıştır. Aradaki fark, magnezyum iyonunun miktarını vermiştir (4,72,73).

Kompleks oluşumuna dayanan titrimetrik yöntemlerde, "şelat" denilen koordinasyon bileşiklerinin oluşması esastır. Titrasyonun yapılmasında, EDTA'nın metal iyonları ile oluşturacağı kompleks, metal-belirteç kompleksinden daha kararlı olmalıdır. Metal iyonu-EDTA dengesinin sağlanarak, kompleks oluşumunun tamamlanmasında pH'nın etkisi de çok önemlidir.

III.4.2.1.1. Standardizasyon ve Yönetimin Taş Çözeltilerine

Uygulanması :

0,01 M EDTA çözeltisi hazırlandıktan sonra kalsiyum karbonat primer standardı ile ayarlanmıştır.

0.5 g saf kalsiyum karbonat 100°C de 1 saat kurutulup soğutulmuştur. 0.4 g kalsiyum karbonat temiz ve kuru 500 ml'lik balon jöjeye tartılıp, 100 ml su eklendikten sonra HCl çözeltisi (1:1) köpürme kesilene kadar damla damla ilave edilmiştir. Sonuçta berrak olan çözelti 500 ml'ye su ile seyretilmiştir. Bu çözeltiden 50 ml alınıp üzerine 5 ml pH 10.10 tamponu ve 5 damla eriokrom siyahı T belirteci eklenmiş, büretteki ayarlanacak EDTA ile titre edilmiştir. Rengin kırmızıdan maviye değiştiği an

dönüm noktasıdır. EDTA'nın metal iyonları ile 1:1 oranında birleşmesinden yararlanılarak, ek 2'de gösterildiği şekilde hesaplamalar yapılmıştır.

Sonuçta EDTA çözeltisinin normalitesi 0,0100 N olarak bulunmuştur. Bu çözelti üç ay süreyle dayanıklıdır.

Taş çözeltisinden 5 ml alındıktan sonra, üzerine 5 ml pH 10.10 tamponu ve 5 damla erikrom siyahı T belirteci eklenmiş, su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Büretteki 0.0100 N EDTA ile titre edilmiştir. Rengin kırmızıdan maviye değiştiği dönüm noktasına kadar harcanan EDTA hacminden yararlanılarak kalsiyum ve magnezyumun toplam miktarı ek 2'de görüldüğü gibi hesaplanmıştır.

Aynı taş çözeltisinden 5 ml daha alınmış üzerine 5 ml 4 N NaOH ve 5 damla müreksit belirteci ilave edilmiştir. 0.0100 N EDTA ile titre edilerek, rengin turuncu pembeden (salmon pembesinden) eflatuna değiştiği dönüm noktası tespit edilerek, kalsiyumun iyonunun miktarı hesaplanmıştır.

Toplam miktardan, kalsiyumun değeri çıkarılarak çözeltideki magnezyum iyonunun miktarı belirlenmiştir.

III.4.2.2. Permanganimetrik Titrasyon:

Yükseltgenme-indirgenme titrasyonlarının hepsi, analiz maddesinin yükseltgen veya indirgen bir titrant ile tepkimesine dayanmaktadır. Permanganimetrik titrasyonda da, potasyum permanganat gibi kuvvetli bir yükseltgen titrant olarak kullanılarak analiz maddesi yükseltgenmektedir. Kararlılığı sınırlı olan potasyum permanganat çözeltisi ile titrasyonda, titrantın mor rengi belirteç olarak kullanılmaktadır.

III.4.2.2.1. Standardizasyon ve Yöntemin Taş Çözeltilerine Uygulanması:

0.1 N potasyum permanganat çözeltisi hazırlanıp, okzalik asit dihidrat primer standardı ile ayarlanmıştır.

Kurutulmuş okzalik asit dihidrattan 0,1-0.2 g arasında tartılıp, üzerine 50 ml su, 5 ml derişik sülfürik asit çözeltisi ve 4 damla % 5'lik $MnSO_4$ çözeltisi eklenmiş ve $70-80^{\circ}C$ ye kadar ısıtılmıştır. Sıcaklık sabit tutularak, büretteki ayarlanacak $KMnO_4$ çözeltisi ile titre edilmiştir. $KMnO_4$ çözeltisine ait menekşe-mor renk görülünce, harcanan miktardan yararlanılarak, normalite ek 3'de gösterildiği gibi hesaplanmıştır. Primer standart ile yapılan beş deney sonucu $KMnO_4$ çözeltisinin normalitesi 0.10924 N olarak bulunmuştur.

Taş numune çözeltilerinden 5 ml alınarak üzerine 40-45 ml su, 5 ml derişik H_2SO_4 ve 4 damla $MnSO_4$ çözeltisi ilave edilmiştir. Çözelti $70^{\circ}C$ 'ye kadar ısıtılıp, 0.10924 N $KMnO_4$ çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon sırasında, çözeltinin sıcaklığı sabit tutulmuş ve 1 ml 0.1 N $KMnO_4$ 'ın 4.5 mg okzalik aside eşdeğer olmasından faydalanılarak, çözeltilerin içindeki okzalat miktarları ek 3'de gösterildiği gibi hesaplanmıştır.

III.4.3. Spektrofotometrik Yöntemler ile Yapılan Analizler :

Taş yapısını oluşturan katyonlardan kalsiyum ve magnezyumun spektrofotometrik yöntemlerle analizleri için pek çok yol önerilmiştir (6,74-83). Bu yöntemlerde, iki iyonun birbirlerine karışmamasına dikkat edilmiştir.

Magnezyum iyonunun pH 10'da eriokrom siyahı T belirteci ile oluşturduğu kompleksin 450-700 nm arasında absorpsiyon spektrumları alınmış-

tır. Belirtecin pH 10'da ve 620 nm'de gösterdiği absorpsiyon pikine karşılık, magnezyum ile kompleksinin maksimum absorpsiyonunun 520 nm'de olduğu görülmüştür (74-76). Ancak kalsiyum iyonu varlığında, kompleks oluşumu sonucu renk şiddetinin ve buna bağlı olarak absorpsiyon artmasının, magnezyum iyonu ile aynı dalga boyunda olduğu görülmüştür. Ancak, pH'da çeşitli değişiklikler yapılarak kalsiyum ve magnezyum iyonlarının değişik dalga boyunda pik verecekleri belirtilmesine karşın, bu yolla da tam bir ayırım sağlanamamıştır (77).

Bu nedenle, iki iyonu birarada içeren çözeltilerden kalsiyum uzaklaştırıldıktan sonra magnezyumun aranmasına geçilebilmiştir. Kalsiyum ve magnezyum iyonları karışımını içeren bir çözeltiliye 0.2 ml 9 N H_2SO_4 çözeltisi ilave edildikten sonra metanol ile çalkalanmış ve 30 dakika bekletilip, süzümüştür. Süzümüye geçen magnezyuma, 10 ml pH 10 tamponu ve 2 ml erio-krom siyahı T belirteci eklenerek, su ile 500 ml'ye seyretilmiştir. Bu çözeltilinin 400-750 nm arasında suya karşı absorpsiyon spektrumu çekilmiştir. Daha sonra standart çözeltilerden eklemeler yapıldığında, kalsiyum piki olduğu anlaşılan 625 nm'deki omuz şeklindeki pikin de magnezyum belirlenmesinde yer aldığı ve analizin kesin sonuç vermesini engellediği görülmüştür (78).

Eriokrom siyahı T belirteci kullanılarak yapılan spektroskopik yöntem ile kalsiyum ve magnezyumun ancak birlikte analizlerinin yapılabileceği sonucuna varılmıştır. Kalsiyum ve magnezyum iyonlarının aynı dalga boyunda gösterdikleri absorpsiyon ile karışımındaki toplam miktarları belirlenebilmektedir. Bu amaçla, standart çözeltili karışımlarının maksimum absorpsiyon gösterdikleri dalga boyundaki (520 nm) absorbans değerleri ölçülmüş, standarttaki iyon derişimlerine karşı elde edilen absorbans değerleri grafiğe geçirilerek standart eğri çizilmiştir.

Kalsiyum ve magnezyum iyonlarının, iyon değiştirici reçineler kullanılarak ayırımları yapılmış sonra spektrofotometrik yöntemlerin uygulanması denenmiştir. Bunun için kuvvetli asidik katyon değiştirici reğine ile doldurulmuş kolondaki kalsiyum ve magnezyum iyonları, değişik pH değerlerindeki EDTA çözeltilerinin geğirilmesi ile EDTA kompleksleri halinde toplanmıştır.(79). EDTA'nın daha kararlı kompleks oluşturduğu Zn gibi metal çözeltilerinin ilavesiyle bu iyonlar açığa çıkarılmış ve spektrofotometrik belirlemeleri yapılmıştır. Ancak, bu yöntemle miktarlardaki kayıp çok fazla olduğundan kullanılamamıştır.

Kalsiyum iyonunun analizinde, ortam sodyum hidroksit ile pH 11.30 veya dietilamin ile pH 12.25 değerlerine getirilerek alkali yapılmış, böylece bulunan magnezyumun hidroksit halinde tutulması sağlanmıştır (5,80). Alkali ortamda kalsiyum iyonu ile kalkon belirtecinin verdiği kompleksin 350-700 nm arasında absorpsiyon spektrumu alınmış, 640 ve 585 nm'lerde absorpsiyon gösteren kalkon belirteciye karşılık, kalsiyum-kalkon kompleksinin 450 nm'de absorpsiyon pikini bir omuz şeklinde verdiği görölmüştür. Bu absorpsiyon piki nicel analize geçilebilecek özellikleri taşımadığından bu yöntem uygulanmamıştır. Alkali ortamda kalsiyum iyonu ile müreksit belirteciye kompleks oluşturmakta ve bu kompleks 506 nm'de maksimum absorpsiyon göstermektedir. Müreksit belirteciye ait absorpsiyon piki de 525 nm civarında bulunduğundan iki pik karışabilmektedir. Sonuçta bu yöntemde uygulanabilir bulunmamıştır.

Çalışmalarda, kalsiyum iyonu analizinin yapılabilmesi için, magnezyumun 8-hidroksikinolin ile kompleks halinde tutulması uygulan-

mıştır. Kalsiyum ve magnezyum standart çözeltilerinin karışımlarına, 1 ml kalkan ve 3 ml 8-hidroksikinolin çözeltisi eklenerek 350-700 nm arasında absorpsiyon spektrumu alınmıştır. Kalkan belirteci için, 380 ve 505 nm'de iki absorpsiyon piki görülmekte, kalsiyum kompleksinin absorpsiyonu ile 640 nm'de olmaktadır. Çözeltide kalsiyum ve magnezyum iyonları bir arada olduğunda, kalsiyum kompleksine ait pik gözlenmemekte, ancak 610 nm'de omuz şeklinde bir pikin olduğu da görülmektedir. Standart çözeltilerin çeşitli karışımları alınarak maksimum absorpsiyon gösterdikleri 640 nm'deki absorbans değerleri ölçülmüş, standart çözeltideki iyon derişimlerine karşı grafiğe geçirilerek standart eğri çizilmiştir. Ayrıca kalsiyum iyonunun analizi için çözeltiye Mg-EDTA çözeltisi eklenerek kalsiyum ile yer değiştirip, açığa çıkan kalsiyum eşit miktardaki magnezyum iyonunun eriokrom siyahı T belirteci ile spektrofotometrik tayini de önerilmiştir (81,82).

Magnezyum iyonunun spektrofotometrik analizi titan sarısı belirteci ile yapılmıştır (6,83). Standart magnezyum çözeltisine, 1 ml titan sarısı belirteci, 1 ml koruyucu olarak polivinil alkol çözeltisi konup, 5 ml'ye 0.1 N NaOH çözeltisi ile tamamlanır. 250-600 nm arasında absorpsiyon spektrumu alındığında, 330 ve 410 nm'deki belirteci için absorpsiyon piklerine karşılık, 535 nm'de maksimum absorpsiyon gösteren pik magnezyumu belirlemektedir. Sadece kalsiyum iyonu bulunduğu durumlarda 535 nm'de absorpsiyon görülmezken 510 nm'de absorbans değeri çok az olan bir pikin olduğu da görülmüştür. Standart çözeltilerin çeşitli karışımları hazırlanarak, karşı gelen absorbans değerleri okunmuş ve çözelti içindeki iyon derişimine karşı grafiğe geçirilerek standart eğri çizilmiştir.

Bütün standart eğrilerin çizilmesinde, her bir derişimdeki standart çözelti en az beş defa hazırlanarak absorbansları ölçülmüş ve bulunan beş değerin ortalaması alınmıştır.

Taş numune çözeltisine yukarıda anlatılan spektrofotometrik yöntemlerin uygulanması ile yapılarındaki kalsiyum ve magnezyumun aynı yolla analizleri yapılmıştır. Standart eğrilerden yararlanılarak taş bileşimindeki kalsiyum ve magnezyumun toplam miktarının belirlenmesinin yanı sıra bu iyonların ayrı ayrı nicel analizleri de yapılmıştır.

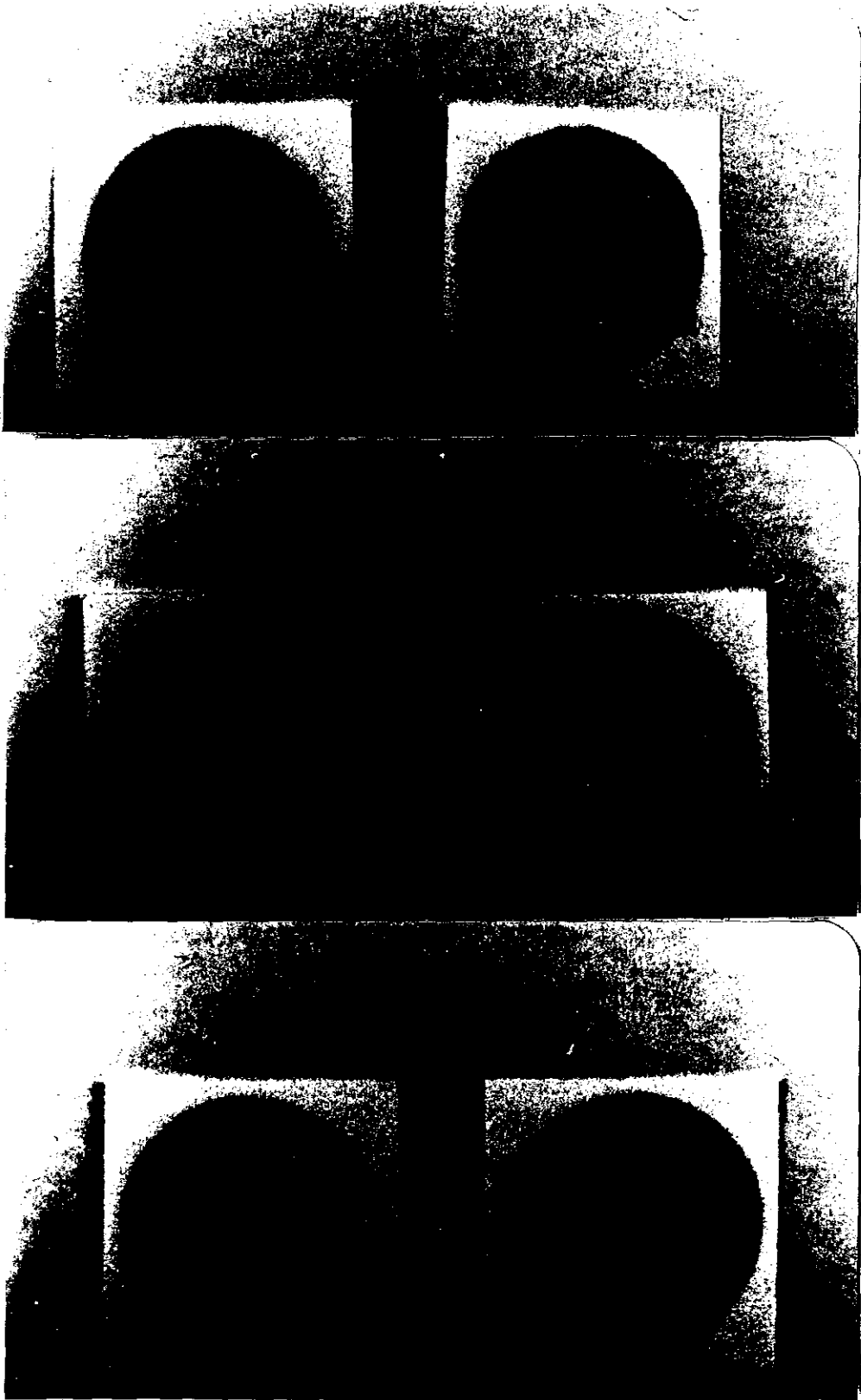
Halka-fırın yöntemi ile yapılan analizler sonucunda elde edilen, 1.0, 0.8, 0.4, 0.2, 0.1 ve 0.05 mg/ml'de kalsiyum iyonu içeren standart renkli halkalar Şekil 4 ve 5'de gösterilmiştir.

Standartlara uygulanan yöntem taş numune çözeltilerine de uygulanmış ve numune çözeltilerinden elde edilen halkaların renkleri ile standart halkalar karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma hem süzgeç kağıdının önünden gelen, hem de arkasından gelen ışık ile yapılmıştır. Her taş numunesi ile yapılan analiz üç kez aynı damla sayılarında çözelti alınarak tekrarlanmıştır. İlk tahmin olarak, numune halkaya karşılık gelen iki standart halka belirlendikten sonra ikinci tahminde, eş olarak iki standart halkadan biri seçilmiştir. Standart skaladaki halkalara eş olan taş halkalarından birer örnek Şekil 4 ve 5'de verilmiştir.

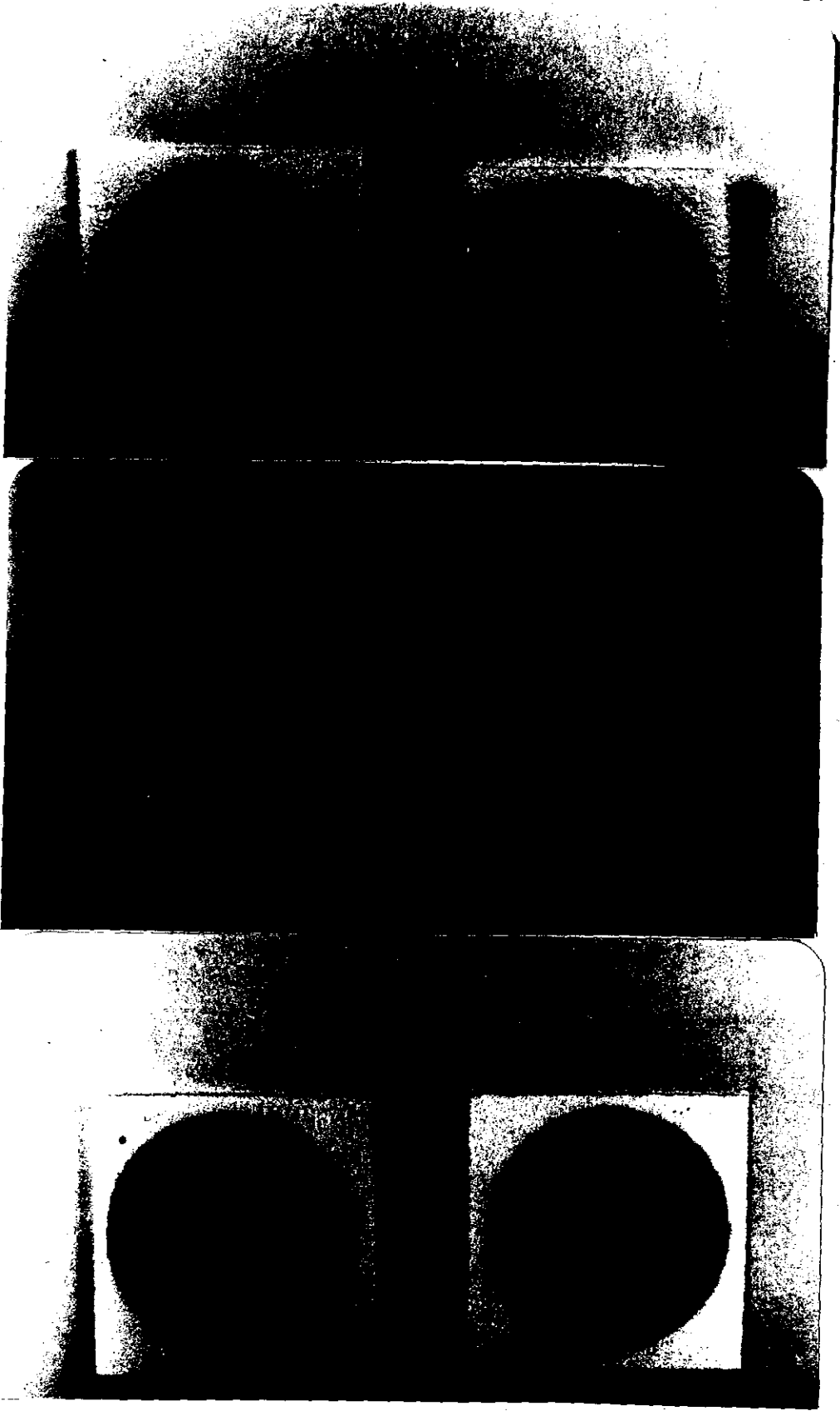
Aynı işlemler her bir taş için üç kez tekrarlandıktan sonra, çözeltilerdeki kalsiyum miktarları ek 1'de gösterilen hesaplamalar ile bulunmuştur.

Halka-fırın yöntemi ile analizleri yapılarak elde edilen, 0.5, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05 ve 0.025 mg/ml'de magnezyum iyonu içeren standart renkli halkalar Şekil 6 ve 7'de gösterilmiştir.

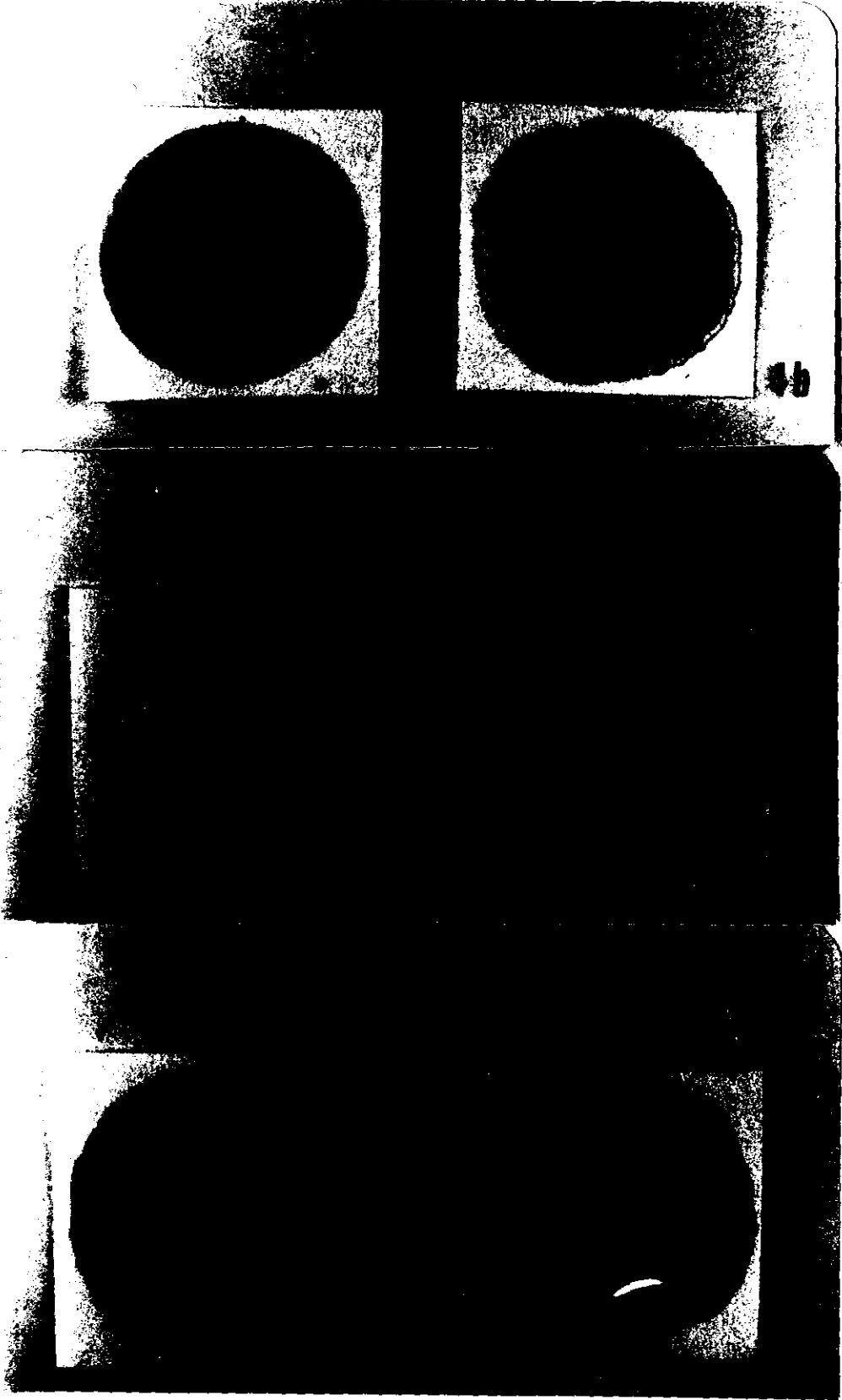
Standartlarla aynı yöntemin taş numune çözeltilerine uygulanması ile elde edilen renkli halkalar, standart halkalarla karşılaştırılmıştır. Bu işlemler, üç kez tekrarlandıktan sonra magnezyum miktarları ek 1'de gösterildiği şekilde hesaplanmıştır. Magnezyum standart skalasındaki halkalara eş olan taş halkalarından birer örnek Şekil 6 ve 7'de gösterilmiştir.



ŞEKİL 4. Halka-fırın yönteminde analizleri yapılan standart kalsiyum çözeltileri ve taş numuneleri.
• 1.0 mg/ml kalsiyum içeren: 1a) standart çözelti, 1b) taş numunesi; 0.8 mg/ml kalsiyum içeren: 2a) standart çözelti, 2b) taş numunesi; 0.4 mg/ml kalsiyum içeren: 3a) standart çözelti, 3b) taş numunesi.



ŞEKİL 5. Halka-fırın yönteminde analizleri yapılan standart kalsiyum çözeltileri ve taş numuneleri.
0.2 mg/ml kalsiyum içeren: 4a) standart çözelti, 4b) taş numunesi; 0.1 mg/ml kalsiyum içeren: 5a) standart çözelti, 5b) taş numunesi; 0.05 mg/ml kalsiyum içeren: 6a) standart çözelti, 6b) taş numunesi.



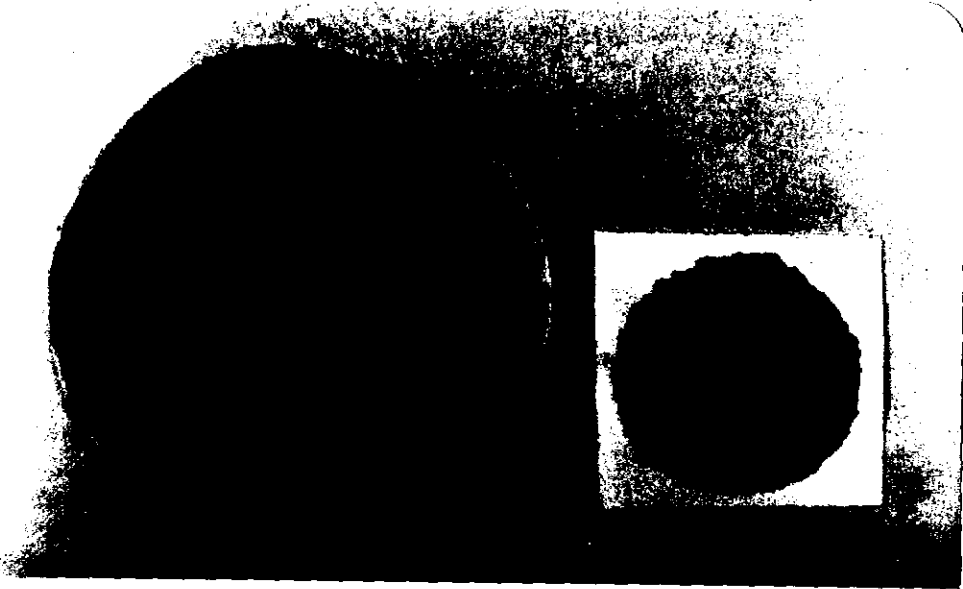
ŞEKİL 7. Halka-fırın yönteminde analizleri yapılan standart magnezyum çözeltileri ve taş numuneleri.
0.1 mg/ml magnezyum içeren: 4a) standart çözelti, 4b) taş numunesi; 0.05 mg/ml magnezyum içeren: 5a) standart çözelti, 5b) taş numunesi; 0.025 mg/ml magnezyum içeren: 6a) standart çözelti, 6b) taş numunesi.

Taş numunelerinde iyonların bulunabilecekleri en düşük ve en yüksek miktarları içeren bir standart skala oluşturulmaya çalışılarak, analiz sonucunda iyonların, skaladaki alt ve üst tayin sınırlarının dışına çıkmaması sağlanmıştır.

Hastalardan ameliyat ile çıkarılan taş numunelerinde kalsiyum ve magnezyumun belirlenen miktarları Tablo 2'de verilmiştir. Bu tabloda yer alan taş numuneleri bundan sonraki kısımlarda sadece taş numarası ile belirtilecektir.

Magnezyum iyonunu 0.5 mg/ml'de içeren standart halkaya karşılık gelen hiç bir taş numune halkası bulunmamıştır.

Fosfat iyonu içeren standart çözeltinin halka-fırında analizi ile elde edilen renkli halka Şekil 8'de görülmektedir.



ŞEKİL 8. Halka-fırın yönteminde fosfat ve amonyum için yapılan analizler

- 1- Fosfat standart çözeltisi
- 2- Amonyum standart çözeltisi

TABLO 2. Böbrek taşlarındaki kalsiyum ve magnezyum miktarlarının halka-fırın yöntemi ile analiz sonuçları

Taş numarası	Hastanın Adı-Soyadı	Kalsiyum mik. (mg/ml)	Magnezyum mik. (mg/ml)
1	H.A.	0.05	0.2
2	R.K.	0.2	0.3
3	A.Ö.	0.4	0.1
4	H.A.	0.2	-
5	Ş.U.	1.0	0.2
6	A.G.	0.1	-
7	Ü.Ç.	0.8	0.1
8	F.Ç.	0.2	0.05
9	A.Ş.	0.4	-
10	N.Z.	0.8	0.025
11	B.Ş.	0.8	0.025
12	L.K.	0.4	0.2
13	K.A.	1.0	0.05
14	İ.S.	0.4	0.2
15	D.D.	0.8	0.1
16	F.K.	0.2	0.075
17	S.U.	1.0	0.025
18	M.Y.	1.0	-
19	Y.K.	0.1	0.1
20	V.K.	0.4	0.2
21	O.A.	1.0	-
22	M.A.	0.025	0.4
23	B.K.	0.4	0.05
24	H.E.	0.4	0.2
25	T.K.	0.15	0.15

26	G.E.	1.0	0.1
27	M.D.	0.1	0.15
28	T.A.	0.025	-
29	M.K.	0.1	0.05
30	R.Ş.	0.1	0.1
31	Ş.E.	0.025	0.05
32	İ.Ö.	0.05	0.05
33	T.D.	0.025	0.05
34	S.D.	0.2	0.1
35	H.S.	0.025	0.05
36	H.B.	0.1	0.3
37	F.O.	0.15	0.025
38	İ.U.	1.0	0.025
39	C.Ö.	0.8	0.1
40	H.G.	1.0	-
41	A.Ö.	0.1	-
42	N.G.	0.1	0.2
43	M.O.	0.025	0.2
44	N.Ç.	0.025	0.1
45	S.B.	1.0	0.05
46	C.Y.	0.8	0.05
47	M.Ö.	0.1	0.2
48	A.Y.	0.1	0.05
49	A.K.	1.0	-
50	A.Ç.	0.4	-
51	A.S.	0.025	0.025
52	Ç.O.	0.025	0.15
53	S.B.	0.025	0.15
54	Ü.T.	0.8	0.1
55	S.Ü.	0.1	0.05

Taş numune çözeltilerindeki fosfatın belirlenmesi için yapılan analiz sonucunda elde edilen renkli halkalar, standart ile karşılaştırılmıştır. 55 adet taş numunesinin 15'inin 0,1 mg/ml'den az ve geri kalanlarının 0.1 mg/ml'den çok fosfat içerdiği görülmüştür. Bu değerlendirmeler Tablo 3'de görülmektedir.

Amonyum iyonu için hazırlanan standart çözeltinin halka-fırın ile analizi sonucunda oluşan renkli halka şekil 8'de gösterilmiştir. Taş numune çözeltilerinin analizi ile elde edilen renkli halkaların çoğunda, 0.1 mg/ml amonyum içeren standart halkanın renk şiddetine ulaşamamıştır. 55 taş numunesinin 33'ünde amonyum varlığı belirlenmiştir. Bunların 11'inde 0.1 mg/ml'den çok ve 22'sinde 0.1 mg/ml'den az amonyum bulunmuştur. Bu sonuçlar Tablo 3'de gösterilmiştir.

Okzalot iyonunun varlığı, hazırlanan standart çözeltinin analizinden sonra potasyum permanganat ilavesinde etrafta pembe renk oluşurken, halkada rengin kaybolması ile anlaşılmaktadır. Taş numune çözeltilerinin analizi sonucunda oluşan halkalarda renk kaybolmasının gözlenip, gözlenmemesine göre taşlarda okzalot iyonunun bulunup bulunmadığı belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 3'de gösterilmiştir.

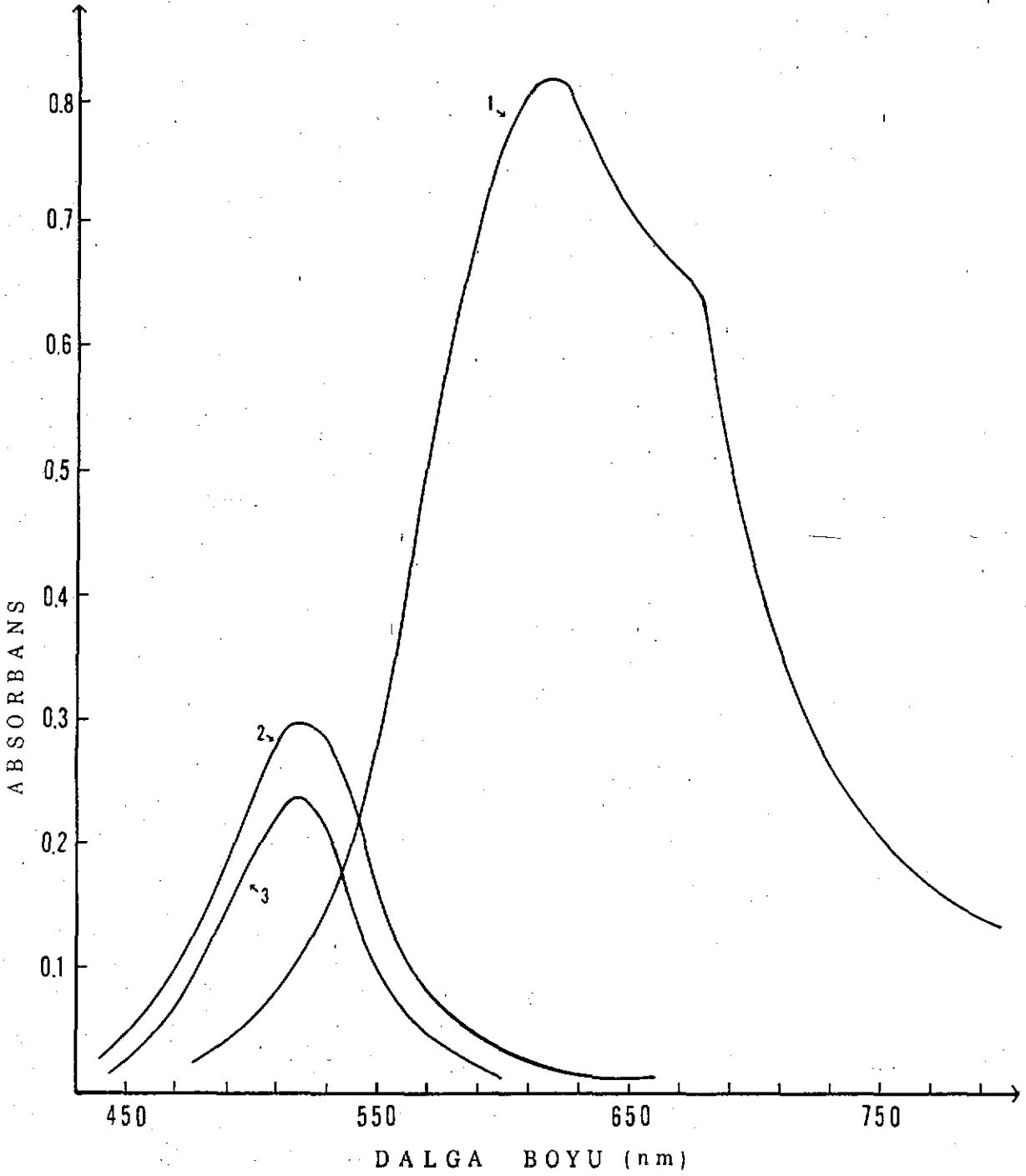
Taş numune çözeltilerinde, kalsiyum ve magnezyumun toplam miktarlarının belirlenmesinde standart çözeltilerin eriokrom siyahı T belirteci ile yapılan spektrofotometrik analizleri sonucu elde edilen spektrumlar Şekil 9'da verilmiştir. Kalsiyum ve magnezyumun maksimum absorpsiyon verdikleri 520 nm'de, standart çözelti derişimlerine karşı absorpsiyon değerleri ölçülmüş ve Şekil 10'da gösterilen standart eğri çizilmiştir. Bu standart eğriden faydalanılarak, örnek olarak seçilen çeşitli taş

TABLO 3. Böbrek taşlarındaki fosfat, okzalit ve amonyum iyonlarının halka-fırın yöntemi ile analiz sonuçları *

Taş numarası	Fosfat	Okzalit	Amonyum
1	++	+	++
2	++	+	++
3	++	-	-
4	++	-	+
5	++	+	-
6	++	-	-
7	++	+	-
8	+	+	-
9	+	+	+
10	++	-	+
11	++	-	+
12	++	+	-
13	++	-	-
14	++	-	++
15	++	+	-
16	++	-	-
17	++	+	-
18	+	+	-
19	++	+	+
20	++	+	++
21	+	+	-
22	++	-	++
23	++	-	+
24	++	+	-
25	++	+	-

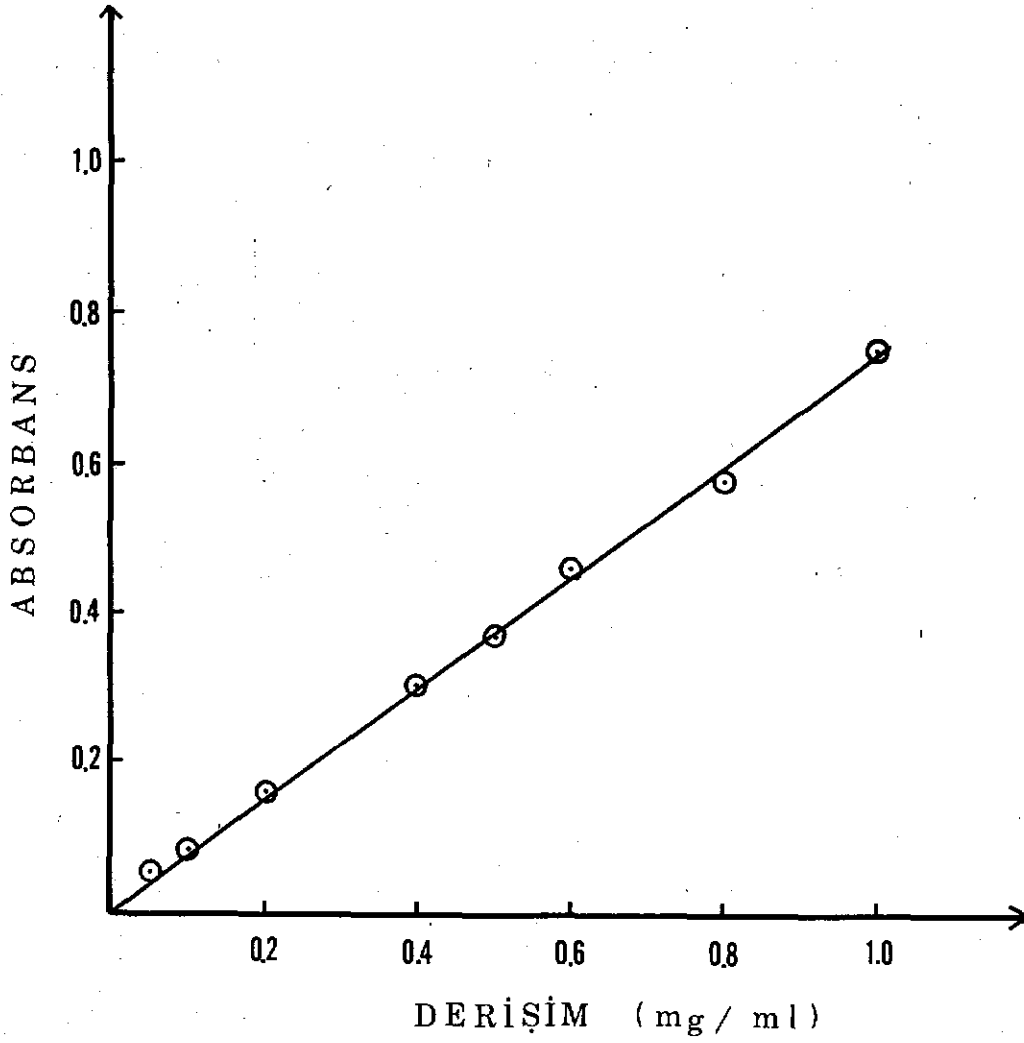
26	++	+	-
27	++	+	++
28	+	-	-
29	+	+	-
30	+	+	-
31	+	+	-
32	+	+	+
33	+	+	+
34	++	+	+
35	+	+	+
36	++	-	++
37	+	+	+
38	++	-	+
39	++	+	+
40	++	+	+
41	+	+	+
42	++	-	-
43	++	+	++
44	++	+	+
45	++	+	+
46	+	+	+
47	++	+	++
48	++	-	+
49	++	-	+
50	++	-	+
51	+	+	+
52	++	-	++
53	++	-	++
54	++	+	-
55	++	-	+

* (+) 0,1 mg/ml'den az olduğunu, (++) 0,1 mg/ml'den çok olduğunu,
 (-) Hiç bulunmadığını gösterir.



ŞEKİL 9. Kalsiyum ve magnezyumun toplam olarak eriokrom siyahı T belirteci ile yapılan analizleri :

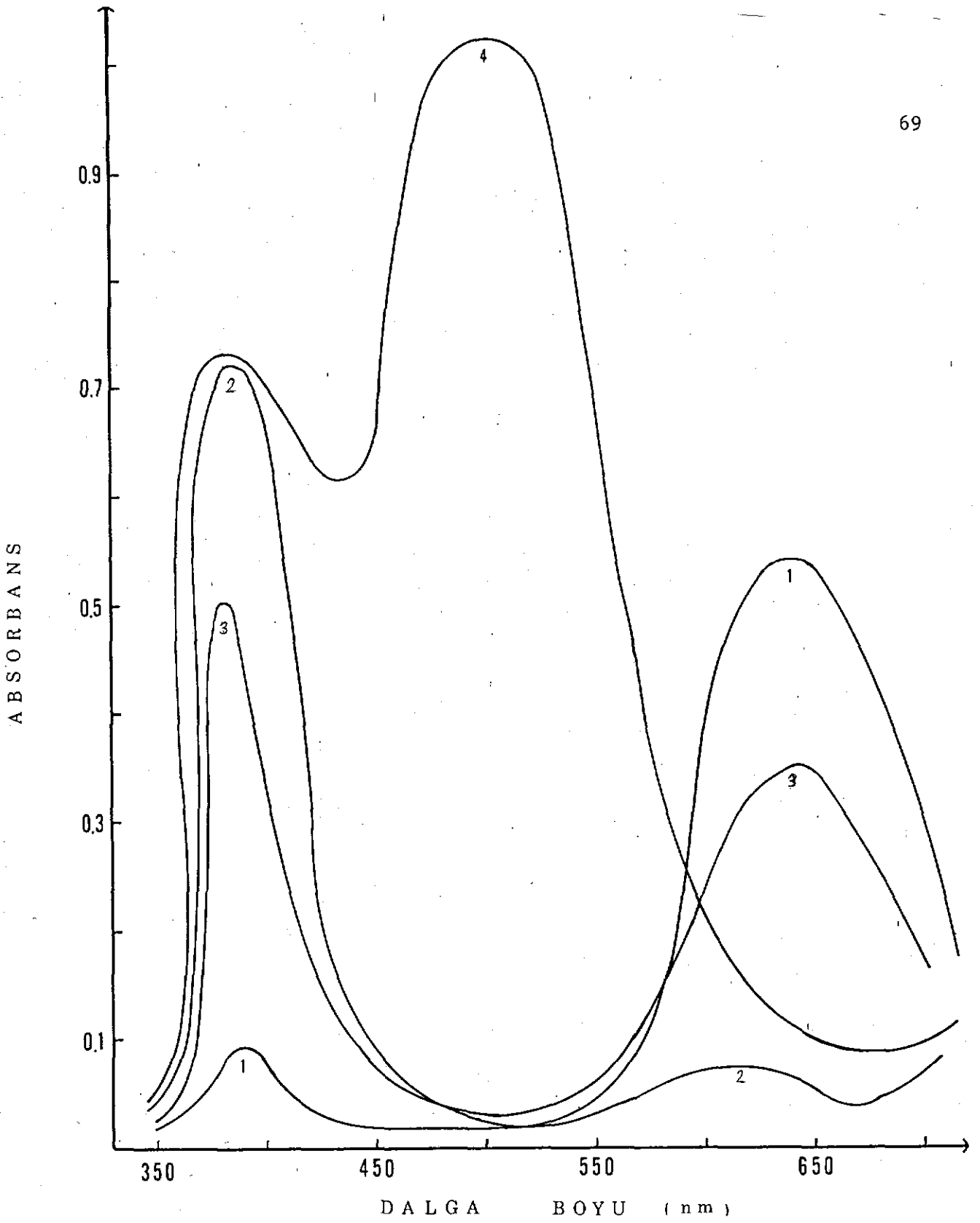
- 1- Eriokrom siyahı T belirtecinin spektrumu,
- 2- Magnezyum-belirteç kompleksinin spektrumu,
- 3- Kalsiyum-belirteç kompleksinin spektrumu.



ŞEKİL 10. Kalsiyum + magnezyum standart eğrisi (λ : 520 nm).

bileşimlerine sahip olan on adet taş numunesinin içerdiği kalsiyum ve magnezyum toplam miktarı bulunmuştur.

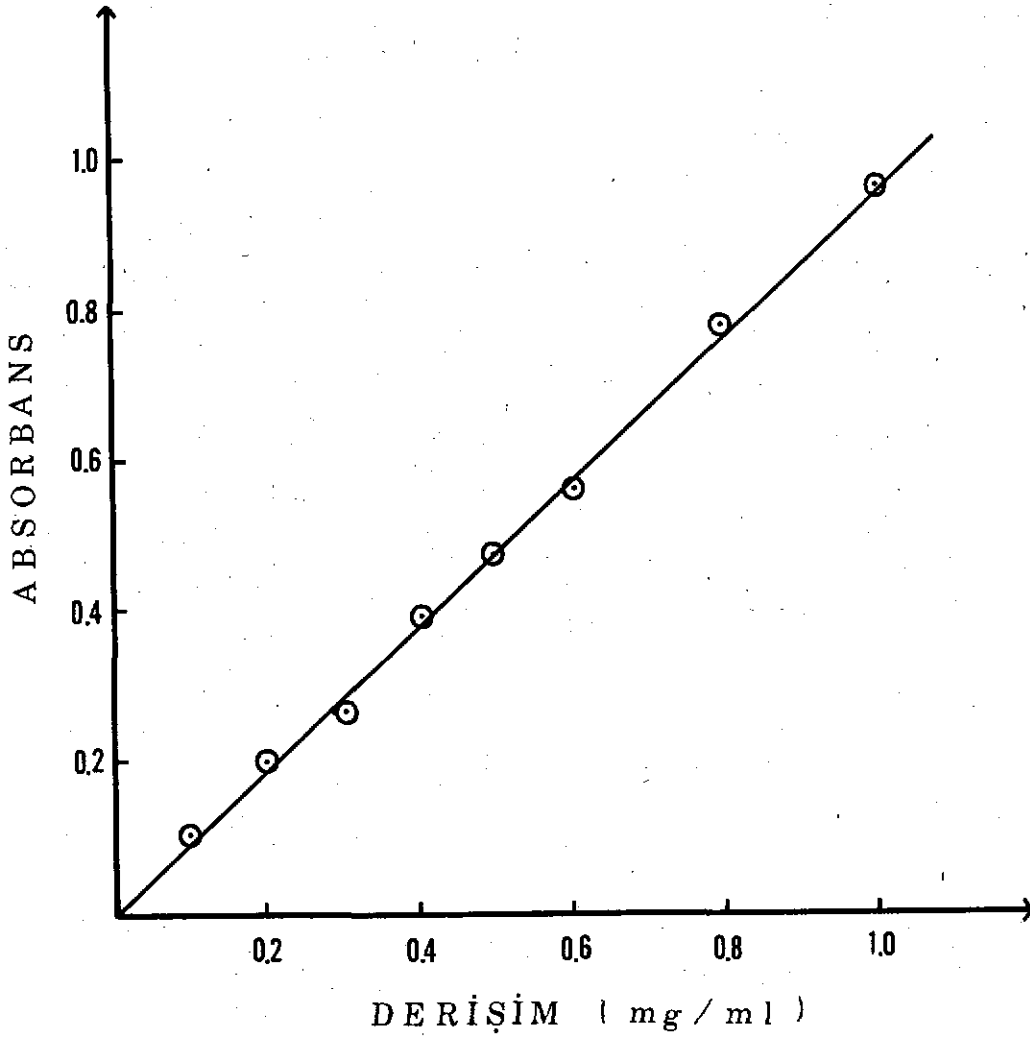
Taş numune çözeltilerindeki kalsiyum miktarının belirlenmesi için, kalkon belirteci kullanılarak yapılan spektrofotometrik analiz sonucu elde edilen spektrumlar Şekil 11'de gösterilmiştir. Kalsiyumun maksimum absorpsiyon piki 640 nm'de görülmektedir. Bu dalga boyunda, çeşitli standart çözelti derişimlerine karşı gelen absorbans değerleri ölçülmüş ve



ŞEKİL 11. Kalsiyum iyonunun kalkon belirteci ile yapılan analizi:

- 1- Kalsiyum-belirteç kompleksinin spektrumu,
- 2- Magnezyumun spektrumu,
- 3- Kalsiyum ve magnezyum içeren çözeltinin spektrumu
- 4- Kalkon belirtecinin spektrumu.

Şekil 12'de verilen standart eğri çizilmiştir. Bu standart eğriden faydalanılarak, örnek olarak seçilmiş olan on adet taş numunesinin içerdiği kalsiyum miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar Tablo 4'de görülmektedir.

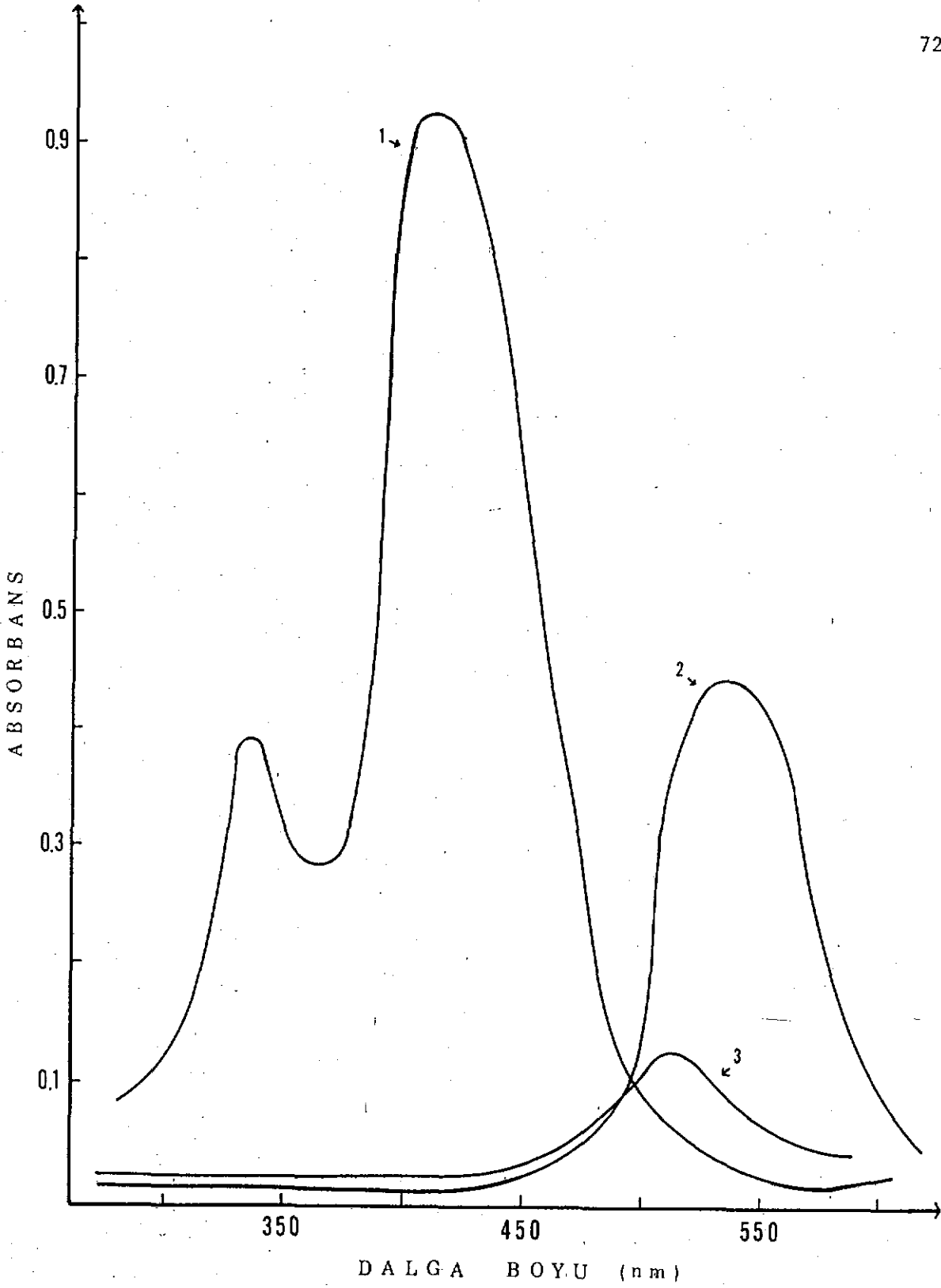


ŞEKİL 12. Kalsiyum standart eğrisi (λ : 640 nm)

TABLO 4. Örnek taş numunelerindeki kalsiyum iyonu miktarlarının halka-fırın, titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemler ile elde edilen analiz sonuçlarının karşılaştırılması.

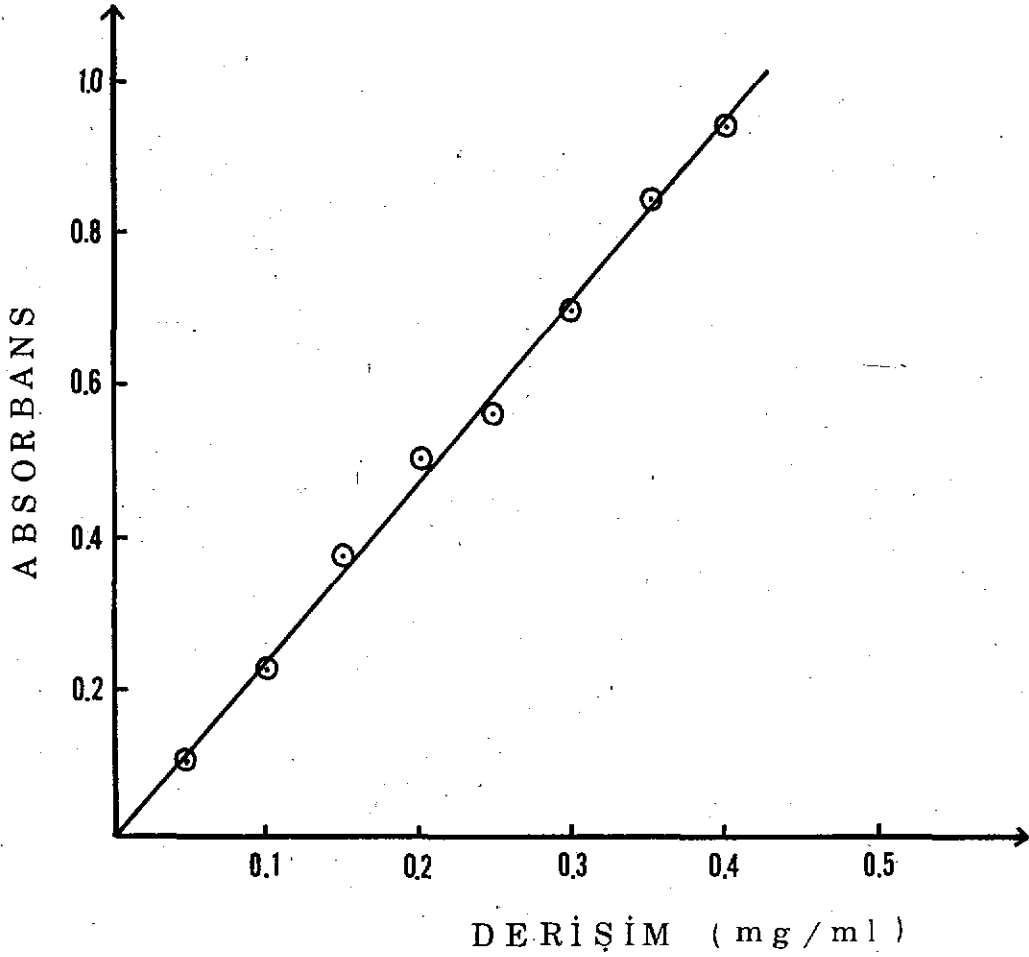
Taş numarası	Halka-Fırın yön. (mg/ml)	Titrimetrik yön. (mg/ml)	Spektrofotometrik yön. (mg/ml)
5	1.0	1.0	1.05
12	0.4	0.42	0.5
15	0.8	0.75	0.82
25	0.15	0.12	0.25
26	1.2	1.2	1.05
32	0.05	0.08	0.12
34	0.2	0.25	0.3
36	0.1	0.11	0.13
42	0.1	0.12	0.15
43	0.025	0.08	0.1

Taş numunelerindeki magnezyum miktarının belirlenmesi için de, spektrofotometrik bir analiz yöntemi uygulanmıştır. Titan sarısı belirteci kullanılarak elde edilen spektrumlar Şekil 13'de gösterilmiştir. Magnezyumun 535 nm'de maksimum absorpsiyon verdiği belirlenmiş ve bu dalga boyunda çeşitli standart çözelti derişimlerine karşı elde edilen absorbans değerleri grafiğe geçirilerek Şekil 14'de verilen standart



ŞEKİL 13. Magnezyum iyonunun titan sarısı belirteci ile yapılan analizi :

- 1- Titan sarısı belirtecinin spektrumu,
- 2- Magnezyum-belirteç kompleksinin spektrumu,
- 3- Kalsiyumun spektrumu.



ŞEKİL 14. Magnezyum standart eğrisi (λ : 535 nm).

eğri çizilmiştir. Örnek olarak seçilmiş olan on adet taş numunesinde uygulanan analiz sonucu elde edilen absorbans değerleri ile, standart eğriden faydalanılarak, taş bileşimlerindeki magnezyum miktarları bulunarak, sonuçlar Tablo 5'de gösterilmiştir.

TABLO 5. Örnek taş numunelerindeki magnezyum iyonu miktarlarının halka-fırın, titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemler ile elde edilen analiz sonuçlarının karşılaştırılması.

Taş numarası	Halka-fırın yön. (mg/ml)	Titrimetrik yön. (mg/ml)	Spektrofotometrik yön. (mg/ml)
5	0.2	0.2	0.17
12	0.2	0.2	0.12
15	0.1	0.1	0.15
25	0.15	0.12	0.14
26	0.1	0.09	0.12
32	0.05	0.09	0.1
34	0.1	0.1	0.12
36	0.3	0.35	0.23
42	0.2	0.2	0.17
43	0.2	0.12	0.19

Titrimetrik yöntemler uygulanarak, seçilmiş olan on adet taş numunesindeki kalsiyum ve magnezyum miktarları bulunmuştur. Kalsiyum iyonu için titrimetrik analiz sonuçları, halka-fırın ve spektrofotometrik sonuçlar ile karşılaştırmalı olarak toplu halde Tablo 4'de verilmiştir. Tablo 5'de ise, aynı taş numunelerindeki magnezyum iyonu miktarlarının belirtilen üç yöntem ile karşılaştırmalı sonuçları görülmektedir. Bu üç yöntem ile elde edilen analiz sonuçları arasında fark olup

olmadığının bulunması için, yöntemler ikişer ikişer gruplandırılarak iki eş arasındaki farkın önemlilik testi uygulanmıştır. Her grup için H_0 hipotezi "iki yöntem arasında fark yoktur" şeklinde kurulmuştur. Bu hipotezi sınamak amacıyla yapılan hesaplamalar ek 4'de açıklanmıştır. Sonuçta bulunan t_H değeri, 0.05 yanılma olasılığında t_T değerinden küçük bulunup, kurulan hipotez kabul edilerek, üç yöntemin sonuçları arasında fark bulunmadığı saptanmıştır.

Taş numunelerindeki okzalit miktarları, permanganometrik titrasyon yöntemi ile belirlenmiş, ayrıca seçilen on iki taş numunesi için sonuçlar Tablo 6'da gösterilmiştir.

TABLO 6. Örnek taş numunelerindeki okzalit miktarlarının permanganometrik titrasyon yöntemi ile elde edilen analiz sonuçları

Taş numarası	Okzalit miktarı (mg/ml)
2	0.27
7	0.68
9	0.62
12	0.65
20	0.41
21	0.82
25	0.62
37	0.68
39	0.51
40	0.62
41	0.55
43	0.55

İdrar Analiz Sonuçları : Böbrek taşı tanısı kesinleşmiş olan hastaların idrarlarından alınmıştır. Hasta idrarlarında halka-fırın yöntemi ile kalsiyum, magnezyum, amonyum, fosfat ve okzalat iyonlarına bakılmıştır. Elde edilen sonuçların normal (taş hastalığı olmayan) kişilerden elde edilenlerle karşılaştırılması Tablo 7'de verilmiştir.

TABLO 7. Taşlı hasta idrarlarından halka-fırın yöntemi ile elde edilen sonuçların normal kişi idrarındaki değerlerle karşılaştırılması.*

Hastanın Adı-Soyadı	İDRARDA ARANILAN İYONLAR				
	Kalsiyum	Magnezyum	Fosfat	Okzalat	Amonyum
S.K.	+ <	+	+	+ >	+
F.D.	+ <	+ >	+ <	+ <	+ <
İ.A.	+ <	+ >	+	+ <	+ <
N.B.	+ <	+ >	+	+ <	+ <
K.G.	+ <	+ >	+	+ >	+
T.E	+ <	+	+	+ <	+

- * (+) normal kişilerdeki değeri,
 (+ <) normal kişilerdeki değerlerden çok olduğunu,
 (+ >) normal kişilerdeki değerlerden az olduğunu göstermektedir.

İstatistiksel Değerlendirme : Şekil 10,12 ve 14'deki standart eğriler için doğrusal regresyon analizleri yapılmış, regresyon ve korelasyon katsayıları hesaplanmıştır (84). Her bir standart eğri için, regresyon katsayısının ve doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü yapılarak, sonuçlar Tablo 8'de verilmiştir.

TABLO 8. Spektrofotometrik analizleri yapılan kalsiyum, magnezyum ve kalsiyum ile magnezyum iyonları için çizilen standart eğrilerin korelasyon ve regresyon katsayıları ile doğrusalıktan ayrılışın önem kontrolü için yapılan hesaplamaların sonuçları.

Standart eğri	n	b	r	S_r	t_H	t_T	OAKT	RKT	RAKT	OAKO	RAKO	F_H	F_T
Kalsiyum	8	0.9623	0.999	0.018	55.5	2.45	0.6031	0.6018	0.0013	0.086	0.0002	0.0023	4.215
Magnezyum	8	2.385	0.9968	0.033	30.2	2.45	0.6014	0.5976	0.0038	0.0859	0.0006	0.007	4.215
Kalsiyum + Magnezyum	8	-0.73	0.9993	0.015	66.6	2.45	0.4266	0.426	0.0006	0.0609	0.0001	0.0016	4.215

Regresyon katsayısının önem kontrolü için, H_0 hipotezi "regresyonakatsayısı önemsiz bir değerdir" şeklinde kurulmuştur. Sonuçta t_H değeri, 0.05 yanılma olasılığında t_T değerinden büyük bulunduğundan H_0 hipotezi reddedilmiştir.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolü analizinin yapılmasında ise, H_0 hipotezi "deneysel noktaların doğrusal regresyon uyumu önemsizdir" şeklinde kurulmuş, bu hipotezi sınamak amacıyla regresyon varyans analiz tablosu ek 4'de gösterildiği şekilde kurulmuş ve terimler açıklanmıştır.

Sonuçta, F_H değeri 0.05 yanılma olasılığında F_T değerinden büyük bulunmuş ve H_0 hipotezi reddedilerek doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğu, her üç dağılım için de doğrunun çizilebileceği kararına varılmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Halka-fırın yöntemi ile böbrek taşı numunesinin çok az miktarlarında analiz yapılarak, taş yapısının aydınlatılması sağlanabilmektedir. Halka-fırın yönteminin uygulandığı cihaz basit bir yapıya sahiptir. Klinik laboratuvarlarda kurulabilecek özellikte olan cihazın maliyeti de düşüktür.

Analizin tamamlanması için 1-1.5 saat yeterlidir. Analiz esnasında gerekli olan fırın sıcaklığının sabit tutulması ve lambanın devamlı yanması da kolaylıkla sağlanabilmektedir.

Renkli halkaların oluşturulmasından sonra miktarlarının belirlenmesinde birkaç kişinin bulguları önemli olmasına karşın, alışkanlık kazanmış olan bir gözün değerlendirmesi daha üstündür.

Halka-fırın, kolay uygulanabilen bir yöntemdir. Çözelti ve renk belirteçlerinin tatbiki sırasında itina gösterilmesinin dışında, analizi yapan kişiden gelebilecek hatalarda en aza indirgenebilmektedir.

Halka-fırın yönteminde cihazın basitliği, analiz süresinin kısalığı, analiz için gerekli numune miktarının azlığı ve kolay uygulanabilir olması, taş analizleri için bu yöntemin rutin kullanılmasını sağlayabilir.

Halka-fırın yöntemi ile yapılan analizlerde, hata sınırının \pm %2-4 oranında olduğu görülerek sonuçların güvenilirliği bulunmuştur.

Halka-fırın yöntemi ile böbrek taşlarının yapısındaki inorganik iyonların aydınlatılması sağlanmıştır.

Taş bileşiminde yer alan ana katyon kalsiyum iyonudur. Bu iyonun magnezyum iyonu varlığında zor olan ayırımı, halka-fırın yöntemi ile ko-

laylıkla sağlanabilmiştir. Ön çalışmalar sırasında magnezyum uzaklaştırılmadan kalsiyumun analizi yapılmış ve kalsiyuma ait rengin oluştuğu, ancak renk şiddetinde azalmaların olduğu görülmüştür. Bu durumun nicel analizi etkileyeceği göz önüne alınarak kalsiyum analizinden önce magnezyum iyonu diskten yıkanarak ayrılmıştır. Analiz yapıldıktan sonra halka şeklinde toplanan kalsiyum iyonunun renk belirteci ile tepkimeye girmeyle görülen renk ile nitel belirlenme sağlanmıştır. Kalsiyum iyonunun belirlenmesi için uygun renk belirtecinin seçilmesinde, en belirgin ve kararlı rengin oluşturulması esas alınmıştır. Genellikle halka-fırın ile yapılan analizlerde kalsiyum iyonu için verilen zirkonyum florür-alizarin S belirteci denenmiş, ancak oluşması istenen kırmızı-eflatun renk kesin bir halkada elde edilememiştir.

Denenen diğer bir renk belirteci müreksittir. Bu belirtecin kalsiyum iyonu varlığında gösterdiği turuncu-pembe rengin şiddeti, kalsiyum iyonu derişiminin artması ile belirgin bir artma göstermemekte ve oluşan renk kısa zamanda solmaktadır. Bu nedenlerle uygulanmayan müreksitten daha değişik yapıda belirteçler de denenmiştir. Sonuçta difenilkarbazit ile kalsiyumun oluşturdukları kırmızı rengin kesin ve kararlı olarak halkada görüldüğü bulunmuştur.

Oluşan renkli halka, standart çözeltilerden farklı derişimlerde hazırlanan renkli halkalar ile karşılaştırılmak suretiyle nicel analiz de yapılmış ve deneylerin güvenirliliğini saptamak amacıyla analizler her bir taş numunesi için en az üç kez tekrarlanarak değerlendirme yapılmıştır. Sonuçta 2 mg taş numunesi içeren 1 ml'lik taş çözeltilerinin içinde kalsiyum iyonunun miktarı, analizi yapılan taşların % 18.2'inde 1.0 mg/ml, % 12.7'sinde, 0.8 mg/ml, % 14.5'inde 0.4 mg/ml, % 9.1'inde

0.2 mg/ml, % 3.6'sında 0.15 mg/ml, % 20'sinde 0.1 mg/ml, % 3.6'sında 0.05 mg/ml ve % 18.2'sinde 0.025 mg/ml olarak bulunmuştur (Bak. Tablo 2).

Magnezyum iyonu, koruyucu bir madde olmasına karşın, alkali idrarda magnezyum amonyum fosfat halinde çökerek taşın yapısına girmektedir. Halka-fırın yöntemi ile taş numune çözeltilerinde magnezyum iyonunun analizinin yapılmasında bir karışma söz konusu değildir. Halkada toplanan magnezyum iyonunun renk belirteci ile oluşturduğu mavi renk ile nitel, bu rengin standartlarla karşılaştırılmasıyla nicel sonuçlar elde edilmiştir.

Magnezyum iyonunun belirlenebilmesi için uygun belirtecin bulunması amacıyla pek çok deneme yapılmıştır. Genellikle magnezyum iyonu için magneson belirteci kullanılmasına karşın, süzgeç kağıdında tepkime belirgin olarak gözlenememektedir. Eriokrom siyahı T belirtecinin pH 10,10 tamponu ile karışım çözeltisinin ilavesi ile halkada magnezyumu gösteren eflatun renk oluşmakta; ancak daha sonra eflatun renk bütün kağıda yayılmaktadır. Sonuçta bu belirteçlerle kesin bir halka elde edilememiştir. Kuinalizarin belirteci uygulanarak magnezyuma ait mavi renk belirlenebilmiştir. Bu sebepten kuinalizarin belirteci magnezyum iyonunun teşhisi için seçilmiştir.

Analizi yapılan taş numunelerinin % 18.2'inde magnezyum iyonu bulunmamıştır. Geri kalan taşlardaki magnezyum iyonu miktarının ise, 0.5 mg/ml'den düşük olduğu görülmüştür. 2 mg/ml taş numunesi içeren çözeltilerde magnezyum iyonunun analizi yapılmıştır. Magnezyum miktarı, taşların % 5.5'inde 0.3-0.4 mg/ml ve % 41.8'inde 0.1-0.2 mg/ml arasındadır. % 34.5'inde ise 0.1 mg/ml'den az bulunmuştur.

Röbrek taşı numunesinde fosfat anyonunun belirlenmesi için halka-fırın yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla bölüm III.4.1.2.1'de anlatılan ayırım ve renk oluşturulması işlemleri uygulanmıştır. Sonuçta elde edilen mavi rengin halka şeklinde değil de, dağılmış olarak bulunmasının nedeni süzgeç kağıdının işlemler sonunda amonyak buharlarına tutulmasıdır. Hızla buharlaşan amonyak, süzgeç kağıdında halka şeklinde biriken fosfat iyonunu sürükleyerek halkanın leke şekline dönüşmesine neden olmaktadır (Bak. Şekil 8).

Analizleri yapılan taş numunelerinin % 27,3'ünde 0.1 mg/ml'den az geri kalan % 72,7'sinde ise 0.1 mg/ml'den çok fosfat iyonunun olduğu görülmüştür.

Okzalat iyonu taş bileşiminde yer alan önemli bir anyondur. Halka-fırında, fosfat iyonunun ayrılmasından sonra analiz edilen okzalat halka şeklinde toplanmıştır. 0.1 N $KMnO_4$ çözeltisi eklendiğinde menekşe-mor rengin kaybolması ile okzalatın nitel belirlenmesi yapılmıştır. Analizi yapılan taşların % 64'ünde okzalat iyonunun varlığı belirlenmiştir. Rengin kaybolma hızı, okzalat miktarı için fikir verebilirse de, bu şekildeki bir nicel belirleme güvenilir değildir. Taş numune çözeltilerindeki okzalat miktarları hakkında bilgi edinmek amacıyla örnek olarak seçilen on iki taş numunesinde permanganimetrik titrasyon yöntemi ile okzalat miktarları tayin edilmiştir. Analizi yapılan taşlardaki okzalat miktarlarınının 0.27-0.82 mg/ml arasında değerler aldığı görülmüştür.

Amonyum iyonu, magnezyum amonyum fosfat yapısına girerek, taş bileşiminde yer almaktadır. Halka-fırın yöntemi ile analiz edilen amonyum iyonunun, renk belirteci ile oluşturduğu renk ile nitel belirlenmesi

yapılmıştır. Sonuçta taşların % 61.8'inde amonyumun varlığı belirlenmiştir. Standartla karşılaştırma ile yapılan yarı-nicel belirlemeler sonucunda, analizi yapılan taşların % 20'sinde 0.1 mg/ml'den çok, % 41.8'inde 0.1 mg/ml'den az amonyum iyonunun bulunduğu belirlenmiştir.

Taşlı hastaların idrarları 24 saat süreyle toplandıktan sonra, uygulanan halka-fırın yöntemi ile kalsiyum, magnezyum, fosfat, okzalat ve amonyum bileşenleri analiz edilmiştir. Normal kişi idrarında da rastlanan bu bileşenler için önemli olan normale göre gösterdikleri fark olmaktadır. Taşlı hastaların idrar analizlerinin sonuçları, normal kişi idrarından elde edilenlerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kalsiyum, okzalat ve amonyum iyonlarının miktarlarında normale göre genel bir artış, magnezyum iyonunda hafif bir azalma, fosfat iyonlarında normal değerlere yakınlık olduğu görülmüştür.

Halka-fırın yöntemi ile karşılaştırma amacıyla kullanılacak yöntemlerin seçilmesinde, güvenilir, iyi bilinen ve çok kullanılan analizlerin bulunmasına çalışılmıştır.

Titrimetrik analizlerde, kalsiyum ve magnezyum iyonunu ayırmak için, iyon değiştirici reçineler, okzalat ile çöktürme, metanolde sülfat halinde tutma gibi yöntemler denenmiş, fakat hiç birinde tatmin edici sonuçlar alınamamıştır.

Bu nedenle, ilk olarak kalsiyum ve magnezyum iyonlarının toplam miktarları EDTA ile kompleks oluşumuna dayanarak bulunmuş, sonra magnezyumun hidroksit haline geçmesi sağlanmış ve kalan kalsiyum iyonu için titrimetrik analiz uygulanarak bu iyonun miktarı bulunmuştur. Bu iyonların toplam miktarlarının belirlenmesinde eriokrom siyahı T belirtecinin kullanılması iyi sonuç vermiştir. Kalsiyum iyonunun belirlenmesinde

ise, kalkon ve müreksit belirteçleri denenmiş, müreksit belirteci ile yapılan analizde, dönüm noktasında rengin daha belirgin olduğu görülerek bu belirteç seçilmiştir. Toplam miktar ile, kalsiyum miktarının arasındaki farktan, magnezyum iyonunun miktarı belirlenmiştir.

Spektrofotometrik analizlerde, eriokrom siyahı T ile magnezyum iyonunun analizi, ancak kalsiyum iyonu ortamdaki tamamen uzaklaştırıldığında olasıdır. Aksi takdirde 520 nm'de kalsiyum ve magnezyum iyonlarının eriokrom siyahı T ile oluşturduğu komplekslerin absorpsiyonuna ait pik görülmektedir. Bundan faydalanılarak toplam analize gidilmiş ve 520 nm'de standart çözelti derişimi ile absorpsiyon arasında pozitif yönde kuvvetli bir ilişkinin olduğu, korelasyon katsayısını bulunması ile saptanmıştır. Bu ilişkinin doğrusal olduğu analiz edilerek regrasyon doğrusu oluşturulmuştur.

Kalsiyum iyonunun müreksit belirteci ile oluşturduğu kompleks üzerinde spektrofotometrik çalışılmış, ancak belirteç ve oluşan kompleks çok yakın dalga boyunda absorpsiyon verdiklerinden UV'de açık bir belirleme sağlanamamıştır. Kompleksin maksimum absorpsiyonunun olduğu dalga boyunda kolorimetrik analizin yapılması ile de tekrarlanabilir sonuçların alınmadığı görülmüştür.

Spektrofotometrik olarak kalsiyum iyonunun analizi için, kalkon belirteci kullanıldığında, dietilamin, sodyum hidroksit veya 8-hidroksikinolin bulunan ortamlarda spektrumlar alınmıştır. En fazla tekrarlanabilir sonuçların alındığı 8-hidroksikinolinli ortamda kalkon belirte-

ci ile kalsiyumun oluşturduğu kompleksin spektrumu esas alınarak maksimum absorpsiyonun görüldüğü 640 nm'de kalsiyum derişimi ile absorpsiyon arasındaki pozitif ilişkinin kuvvetli olduğu ve bir doğru ile belirlenebileceği açıklanmıştır.

Spektrofotometride, magnezyum iyonunun, analiz edilebilmesi için titan sarısı ile oluşturduğu kompleksten yararlanılmış ve en uygun koruyucu ajanın polivinil alkol olduğu görülmüştür. Oluşan kompleksin maksimum absorpsiyon gösterdiği 535 nm'de iyon derişimi ile absorpsiyon arasındaki kuvvetli ilişkide doğrulanmıştır.

Halka-fırın yöntemi ile karşılaştırılma yapılması için seçilen titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemlerle, örnek olarak seçilen taş numunelerindeki kalsiyum ve magnezyum iyonlarının derişimleri bulunmuştur. Sonuçlara iki eş arasındaki farkın önemlilik testi uygulandığında, üç yöntem arasında fark bulunmadığının görülmesi, halka-fırın yönteminin bilinen, kullanılan ve güvenilir diğer yöntemler ile aynı değere ulaşabileceği olgusunu da kuvvetlendirmektedir.

Halka-fırın ile analizleri yapılan taş numunelerinden bazılarının x-ışın difraksiyon yöntemi ile de analizleri Hacettepe Üniversitesi Yer Bilimleri Enstitüsü'nde yapılmıştır.

X-ışınları difraksiyon çalışmaları böbrek taşlarının rutin analizi için, pahalı ve uzun zaman gerektirdiğinden kullanışlı değildir.

Bazı araştırmalarda, x-ışınları difraksiyon tekniği ile böbrek taşının yapısında az miktarda bulunan bileşenlerinin belirlenemediği, taş yapısında % 20-30'dan az olan bileşenlerin belli koruyucu faktörler olmadıkça tanınamayacağı belirtilmiştir (55).

Diğer bir araştırmada da, yüz tane taş numunesinin x-ışınları difraksiyon ve kimyasal yöntemlerle analizi yapılmıştır (59).

Yüz taştan altmışında kimyasal yöntem ile bulunan bir veya daha fazla bileşen x-ışınları difraksiyon yöntemi ile belirlenmemiştir. Otuz sekiz taştta fosfat iyonu, yirmi taştta magnezyum, amonyum iyonu veya ikisi birlikte kimyasal olarak belirlenmiş, ancak x-ışınları difraksiyon ile saptanamamışlardır. On üç taşın yapısı x-ışınları difraksiyon ile bulunurken, kimyasal olarak gözlenememiştir. Kalsiyum iyonu ise, hemen hemen bütün taşlarda sadece kimyasal analiz ile bulunmuştur. Bu araştırmacılar, kimyasal ve x-ışınları difraksiyon yöntemine ilave olarak bazı numuneleri IR spektroskopisi ile de analiz etmişlerdir (59). Üç taştta IR ile bulunan okzalit iyonu kimyasal analiz sonucu bulunamamış, üç taştta da kimyasal olarak belirlenen fosfat iyonu IR ile tespit edilememiştir. Amonyum, kalsiyum ve magnezyum iyonları x-ışınları ve IR ile belirlenen taşların sadece birinde kimyasal analiz ile bulunamamıştır.

Halka-fırın ile analiz edilen taş numunelerinin x-ışınları difraksiyon yöntemi ile analizleri sonucunu değerlendirdiğimiz zaman aralarındaki ilişkinin olumlu olduğunu görmekteyiz. X-ışınları difraksiyon yöntemi ile magnezyum iyonu belirlenmesine rağmen fosfat iyonunun belirlenemediği taşlarda halka-fırın yöntemi ile fosfat bulunmuştur. Bu durum, fosfat iyonu analizinde halka-fırının eser miktarlarda dahi sonuç verdiğini göstermektedir.

X-ışınları difraksiyon ile okzalit iyonu olduğu belirlenen beş taştta halka-fırın yöntemi ile belirlenme yapılamamıştır. Bunun nedeni halka-fırın yöntemi ile okzalit anyonu belirlenmesinde tanınma sınırının en az 0.08-01 mg/ml olmasıdır.

X-ışınları difraksiyon ile kalsiyum iyonu belirlenemezken, halka-fırın yöntemi ile bütün taşlarda kalsiyum iyonunun varlığı bulunmuştur. X-ışınları difraksiyon sonuçlarının sadece nitel olarak verilmesine karşın, halka-fırın yöntemi ile yarı-nicel ve nicel sonuçların elde edilmesi üstünlük sağlamaktadır. Kimyasal yöntemler ile yapılan analiz sonuçlarına göre de taşlarda belirlenmesi zor olan kalsiyum ve magnezyum iyonları halka-fırın yöntemi ile nicel olarak saptanmaktadır. Kimyasal analiz ile fosfat iyonu bulunmamış olan beş taşta fosfat iyonu halka-fırın yöntemi ile belirlenmesine karşın, okzalat iyonu bu yöntem ile belirlenememiştir,

Bu çalışmada halka-fırın yöntemi ile böbrek taşlarının yapısında bulunan inorganik bileşenler değerlendirilmiştir.

Bu yöntemin organik bileşiklere de uygulanabilir olmasından yararlanılarak ilerki çalışmalarda böbrek taşı yapısındaki ürik asit, sistin, ksantin bileşenlerinin de analizleri planlanmıştır.

Ö Z E T

Bu çalışmada, böbrek taşı hastalarından çıkarılan taşların bileşimlerinin aydınlatılması için halka-fırın yönteminin uygunluğunun saptanması amaçlanmıştır. Bu yöntemin aynı zamanda kullanışlı, kısa sürede ve az madde miktarı ile sonuç verebilen, duyarlı ve tekrarlanabilir özellikleri taşıyan ve ucuz bir yöntem olması da göz önüne alınmıştır.

Halka-fırın yönteminde, standart ve taş numunelerinden hazırlanan çözeltiler ile aynı ortamlarda çalışılmış, sonuçlar karşılaştırma suretiyle hesaplanarak değerlendirilmiştir. Ellibeş taş numunesinde, 2 mg taş numunesi içeren 1 ml taş çözeltisinin içinde, 0.025-1.0 mg/ml arasında kalsiyum iyonu ve 0.025-0.5 mg/ml arasında magnezyum iyonunun bulunduğu nicel olarak saptanmıştır. Bütün taş numunelerinde bulunan fosfat iyonunun, taşların % 72,7'sinde 0.1 mg/ml'den çok, taş numunelerinin % 62'sinde varlığı belirlenen amonyum iyonunun ise, taşların % 42'sinde 0.1 mg/ml'den az olduğu gözlenmiştir. Okzalat iyonunun sadece nitel belirlenmesi yapılarak, taş numunelerinin % 64'ünde amonyum iyonunun olduğu bulunmuştur.

Aynı yöntemin taşlı hastaların idrarlarına da uygulanabildiği gösterilmiştir.

Önerilen halka-fırın yöntemi ile elde edilen sonuçların güvenilirliğini saptamak amacıyla titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemlerle analizler yapılmıştır. Standart kalsiyum ve magnezyum çözeltileri ile çalışılarak, Beer eğrileri çizilmiş ve eğrilere ilişkin istatistiksel hesaplamalar yapılarak, kalsiyum iyonu için 0.1-1.0 mg/ml, magnezyum

iyonu için 0.05-0.5 mg/ml derişimleri arasında spektrofotometrik yöntemin uygulanabilir olduğu saptanmıştır. Halka-fırın, titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemleri ile elde edilen analiz sonuçları arasında fark bulunmadığı da istatistiksel olarak belirlenmiştir.

Sonuçta, halka-fırın yönteminin rutin analiz için de uygulanabilir olduğu saptanmıştır.

S U M M A R Y

The objective of this study is to establish the suitability of the ring-oven technique to determine the composition of the kidney-stones operated off patients under kidney-stone treatment. This study has chosen the ring-oven technique due its characteristics of being useful, resulting in a relatively shorter time with little use of material, its sensitivity and repetitive nature, as well as rather cheap cost.

In the ring-oven technique, we have chosen to work with solutions prepared from standards and stone samples with under same conditions and the results evaluated by calculations based on comparisons. In a sample of 55 kidney-stones, it has been established quantitatively that there are calcium ions of 0.025-1.0 mg/ml and magnesium ions of 0.025-0.5 mg/ml in a solution of 1 ml stone 2 mg of a stone sample. It was also observed that the phosphate ions present in all stone samples was over 0.1 mg/ml in 72.7 % of the total stones and the ammonium ions present in only 62 % of the stone samples was less than 0.1 mg/ml in 42 % of the total stones. For the oxalate ions, however, only a qualitative observation was made, which showed that it was present in 64 % of the total stone samples.

It has been proved in this study that this ring-oven technique can be applied to the urine of the patients with kidney-stones.

In order to determine the reliability of the results achieved from the proposed ring-oven technique, titrimetric and spectrophotometric analysis was also carried out. For this purpose, using the standard solutions of calcium and magnesium, Beer's law had been applied. Statistical data had been calculated for the calibration curves and consecutively

determined that spectrophotometric techniques can be applied between the concentrations of 0.1-1.0 mg/ml for calcium ions and 0.05-0.5 mg/ml for magnesium ions.

It has also been proved statistically that there are no differences between the results achieved in the analysis carried out by the ring-oven or titrimetric nor spectrophotometric techniques.

In conclusion, it has been fully established that the ring-oven technique can be applied for the routine analysis of kidney-stones.

K A Y N A K L A R

- 1- Strauss, M.B., Welt, L.G., Diseases of the Kidney, Cilt 2, Little, Brown and Company, Boston, 2. Baskı (1971).
- 2- Hodgkinson, A., A combined qualitative and quantitative procedure for the chemical analysis of urinary calculi, J. Clin. Path., 24, 147 (1971).
- 3- Weisz, H., Microanalysis by the Ring-Oven Technique, Pergamon Press, Oxford, 2. Baskı (1970).
- 4- Betz, J.D., Noll, C.A., Total-hardness determination by direct colorimetric titration, J. Am. Water Works. Assoc., 42, 49 (1950).
- 5- Hildebrand, G.P., Reilley, C.N., New indicator for complexometric titration of calcium in presence of magnesium, Anal. Chem., 29, 258 (1957).
- 6- Wesemael, J.C., The determination of magnesium with titan yellow, Anal. Chim. Acta, 25, 238 (1961).
- 7- Pataki, L., Zapp, E., Basic Analytical Chemistry, Pergamon Press, Budapeşte (1980).
- 8- Stephen, W.I., Contribution to spot colorimetry using the Weisz ring oven, Mikrochim. Acta, 1540 (1956).
- 9- Biswas, S.D., Dey, A.K., Application of the Weisz ring oven technique to the separation and identification of micro-quantities of some less familiar cations, Mikrochim. Acta, 10 (1963).
- 10- Weisz, H., West, P.W., Localization of spot test colors by use of the ring oven, Mikrochim. Acta, 585 (1960).

- 11- West, P.W., Inorganik microchemistry, Anal. Chem., 28, 757 (1956).
- 12- Gawargious, Y.A., Ottendorfer, L.J., Bishara, S.W., Investigations on tests for phosphate and silicate by the ring oven method, Anal. Chim. Acta, 34, 108 (1966).
- 13- West, P.W., Thabet, S.K., Microdeterminations of zinc by means of reagent crayons and the ring oven technique, Anal. Chim. Acta, 37, 246 (1967).
- 14- Weisz, H., Celap, M.B., Almazan, V.V., Ringofen-Tüpfelkolorimetrie mit hilfe einer silbersulfid-standardskala, Mikrochim. Acta, 37 (1959).
- 15- West, P.W., Llacer, A.J., Determination of antimony by the ring oven technique, Anal. Chem., 34, 555 (1962).
- 16- West, P.W., Mohilner, P.R., Estimation of beryllium with eriochrome cyanine R using the ring oven technique, Anal. Chem., 34, 558 (1962).
- 17- Skoog, D.A., West, D.M., Fundamentals of analytical chemistry, Holt, Rinehart and Winston, U.S.A., 3. Baskı (1976).
- 18- Singh, E.J., Dey, A.K., Separation and micro-identification of metallic ions by ring oven technique. I, Mikrochim. Acta, 366 (1961).
- 19- Munshi, K.N., Dey, A.K., Separation and identification of some anions using Weisz ring oven technique, Mikrochim. Acta, 875 (1962).
- 20- Biswas, S.D., Munshi, K.N., Dey, A.K., A systematic scheme for the analysis of common anions using the Weisz ring oven technique, Mikrochim. Acta, 40 (1963).

- 21- Ghose, A.K., Dey, A.K., A scheme of qualitative analysis for twenty common cations, *Analyst*, 95, 698 (1970).
- 22- West, P.W., Mukherji, A.K., Separation and microidentification of metallic ions by solvent extraction and ring oven techniques, *Anal. Chem.*, 31, 947 (1959).
- 23- West, P.W., Weisz, H., Gaeke, G.C., Lyles, G., Transfer, concentration, and analysis of collected air-borne particulates based on ring oven techniques, *Anal. Chem.*, 32, 943 (1960).
- 24- Rayner, L.W.W., An improved washing-in technique for use with the ring oven, *Mikrochim. Acta*, 214 (1970).
- 25- Celap, M.B., Janjic, T.J., Hic. M., Semiquantitative determination of some amino acids using the Weisz ring oven, *Mikrochim. Acta*, 509 (1962).
- 26- Celap, M.B., Janjic, T.J., Jevtic, V.D., Semiquantitative determination of sugars using the Weisz ring oven, *Mikrochim. Acta*, 1037 (1963).
- 27- Celap, M.B., Janjic, T.J., Nikolic, A.T., Semiquantitative determination of micro amounts of phenols using the ring colorimetry method, *Mikrochim. Acta* , 1040 (1963).
- 28- Celap, M.B., Janjic, T.J., Jevtic, V.D., Determination of alkaloids by a ring colorimetry method, *Mikrochim. Acta*, 1043 (1963).
- 29- Sibalic, S.M., Adamovic, V.M., Miletic, N., Application of the ring oven technique to the semi-quantitative determination of some antioxidants, *Mikrochim. Acta*, 1028 (1967).
- 30- Celap, M.B., Janjic, T.J., Jevtic, V.D., Application of the ring oven method to the determination by dyestuffs, *Mikrochim. Acta*, 647 (1965).

- 31- Meisel, T., Nemeth, A., Erdey, L., Anwendung der ringofenmethode zum nachweis einiger heteroelemente in organischen verbindungen, Mikrochim. Acta, 874 (1961).
- 32- Weisz, H., Schepky, G., Zum nachweis funktioneller gruppen unter verwendung der ringofenmethode, Mikrochim. Acta, 994 (1965).
- 33- Gertner, A., Grdinic, V., Beitrage zur ringofenmethodik. XI, Mikrochim. Acta, 197 (1975).
- 34- Stephen, W.I., The use of the Weisz ring oven in electrographic analysis, Mikrochim. Acta, 1531 (1956).
- 35- Scherz, H., Bancher, E., Kaindl, K., Über eine kombination der dünnschichtchromatographie mit der ringofenmethode nach Weisz, Mikrochim. Acta, 255 (1965).
- 36- Shen, N.S., Kan, T.H., Keng, H.T., Ion exchange ring oven technique, Acta Chim. Sinica, 30, 17 (1964). Ref.: Anal. Abstr., 12, 2665 (1965).
- 37- Burns, D.T., Mukerji, M.K., Estimation of chloride ion using a ring oven titration technique, Lab. Pract., 15, 1118 (1966). Ref.: Anal. Abstr., 15, 158 (1968).
- 38- Mooney, J.B., A general microqualitative technique. Combination of ring oven, cation exchange paper, and emission spectrograph, Anal. Chem., 34, 1506 (1962).
- 39- Abe, S., Kikuchi, H., Application of adsorbtion barrier technique in the ring oven method: Rapid separation of acid dyes with magnesium and aluminium hydroxide zone papers, Mikrochim. Acta, 615 (1973).
- 40- Eranıl, N., Üriner sistem patolojisi, Ayyıldız matbaası, Ankara, 2. Baskı (1963).

- 41- Günalp, İ., Modern Üroloji, A.Ü. Basımevi, Ankara (1973).
- 42- Boyce, W.H., Organic matrix of human urinary concretions, Am.J.Med., 45, 673 (1968).
- 43- Black, D., Renal Disease, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 3. Baskı (1972).
- 44- Robertson, W.G., Peacock, M., Nordin, B.E.C., Activity products in stone-forming and non-stone-forming urine, Clin. Sci., 34, 579 (1968).
- 45- Allen, A.C., The Kidney. Medical and Surgical Diseases, Grune and Stratton, New York, 2. Baskı (1962).
- 46- Bakkaloğlu, M., Okzalıt emilimini etkileyen faktörler ve diyetsetel hiperokzalürinintedavisi, Doçentlik tezi, H.Ü., Ankara (1978).
- 47- Prien, E.L., Frondel, C., Studies in urolithiasis I. The composition of urinary calculi, J. Urol., 57, 949 (1947).
- 48- Prien, E.L., Prien, Jr., E.L., Composition and structure of urinary stone, Am.J. Med., 45, 654 (1968).
- 49- Winer, J.H., Mattice, M.R., Routine analysis of urinary calculi, J. Lab.Clin.Med., 23, 898 (1943).
- 50- Kirby, J.K., Pelphrey, C.F., Rainey, J.R., The analysis of urinary calculi, Am.J.Clin. Path., 27, 360 (1957).
- 51- Zaidman, J.L., Pinto, N., Studies on urolithiasis in Israel, J.Urol., 115, 626 (1976).
- 52- Kleeberg, J., Simplified qualitative chemical analysis for urinary calculi, J.Clin. Path., 29, 1038 (1976).

- 53- Holt, P.F., Tarkony, A.L., The analysis of calculi using microchemical methods, *J.Clin. Path.*, 6, 114 (1953).
- 54- Hodgkinson, A., Composition of urinary tract calculi from some developing countries, *Urol. Int.*, 34, 26 (1979).
- 55- Nicholas, H.O., Urinary calculi. I.A simple semiquantitative method of analysis, *Clin. Chem.*, 4, 261, (1958).
- 56- Leonard, R.H., Butt, A.J., Analysis of urinary calculi in Etiologic Factors in Renal Lithiasis; Butt, A.J., Edi.; Charles C.Thomas Publisher, U.S.A. (1956).
- 57- Hodgkinson, A., Peacock, M., Nicholson, M., Quantitative analysis of calcium-containing urinary calculi, *Inves. Urol.*, 6, 549(1969).
- 58- Dreach, G.W., Urinary lithiasis in Campbell's Urology; Harrison, J.H., Gittes, F.R., Perlmutter, D.A., Stamey, A.T., Walsh, P.L., Edi.; W.B. Saunders Co., Philadelphia, 4.Bask1 (1979).
- 59- Elliot, J.S., Structure and composition of urinary calculi, *J.Urol.*, 109, 82 (1973).
- 60- Tsay, Y.C., Application of infrared spectroscopy to analysis of urinary calculi, *J. Urol.*, 86, 838 (1961).
- 61- Pollack, S.S., Carlson, G.L., A comparison of x-ray diffraction and infrared technics for identifying kidney stones, *Am.J.Clin. Path.*, 52, 656 (1969).
- 62- Beeler, M.F., Veith, D.A., Morriss, R.H., Biskind, G.R., Analysis of urinary calculus, *Am.J.Clin.Path.*, 41, 553 (1964).

- 63- Marano, R.T., Mcatee, J.L., Wittstruck, K.K., Marano, A.A., Differential thermal analysis of kidney and bladder stones, *Thermochimica Acta*, 4, 405 (1972). Ref.: C.A. 77, 85283 g (1972).
- 64- Hesse, A., Dietza, H.J., Berg, W., Hienzsch, E., MASS spectrometric trace element analysis of calcium oxalate uroliths, *Eur. Urol.*, 3, 359 (1977). Ref.: C.A. 88, 168051 h (1977).
- 65- Meyer, J.L., Angino, E.E., The role of trace metals in calcium urolithiasis, *Invest. Urol.*, 14, 347 (1977).
- 66- Temizer, A., Kanser kemoterapisinde kullanılan vinca alkaloidlerinin elektroanalitik tayin yöntemleri üzerinde bir çalışma, Doçentlik tezi, H.Ü., Ankara (1981).
- 67- Holth, T., Separation of calcium from magnesium by oxalate method, *Anal. Chem.*, 21, 1221 (1949).
- 68- Banewiez, J.J., Kenner, C.T., Determination of calcium and magnesium in limestones and dolomites, *Anal. Chem.*, 24, 1186 (1952).
- 69- Diehl, H., Goetz, C.A., Hach, C.C., The versenate titration for total hardness, *J. Am. Water Works. Assoc.*, 42, 40 (1950).
- 70- Carubelli, R., Smith, W.O., Hammarsten, J.F., Determination of magnesium and calcium in urine, *Clin. Chem.*, 5, 45 (1959).
- 71- Ghosh, A.K., Roy, K.L., Modified ethylenediaminetetraacetate method for the direct estimation of magnesium, *Anal. Chim. Acta*, 14, 504 (1956).
- 72- Golterman, H.L., Clymo, R.S., Ohnstad, M.A.M., *Methods for Physical and Chemical Analysis of Fresh Water*, Blackwell Sci. Pub., Oxford, 2. Baskı (1978).

- 73- Hunter, G., The micro-determination of magnesium in presence of known amounts of calcium, *The Analyst*, 83, 93 (1958).
- 74- Gasser, J.K.R., The determination of small amounts of magnesium with eriochrome black, *The Analyst*, 80, 482 (1955).
- 75- Pollard, F.H., Martin, J.V., The spectrophotometric determination of the alkaline-earth metals with murexid, eriochrome black T and with o-cresolphthalein complexone, *The Analyst*, 81, 348 (1956).
- 76- Marczenko, Z., *Spectroscopic Determination of Element*, Ellis Horwood Ltd., Chishester (1976).
- 77- Young, A., Sweet, T.R., Complexes of eriochrome black T with calcium and magnesium, *Anal.Chem.*, 27, 418 (1955).
- 78- Harvey, A.E., Komarmy, J.M., Wyatt, G.M., Colorimetric determination of magnesium with eriochrome black T, *Anal. Chem.*, 25, 498 (1953).
- 79- Abdullah, M.I., Riley, J.P., The titrimetric determination of calcium and magnesium in silicate rocks, *Anal. Chim. Acta*, 33, 391 (1965).
- 80- Williams, M.B., Moser, J.H., Colorimetric determination of calcium with ammonium purpurate, *Anal. Chem.*, 25, 1414 (1953).
- 81- Reilley, C.N., Hildebrand, G.P., *Methods of indirect spectrophotometry*, *Anal. Chem.*, 31, 1763 (1959).
- 82- Impedovo, S., Traini, A., Papoff, P., Automatic determination of calcium and magnesium in water, *Talanta*, 18, 97 (1971).
- 83- Bradfield, E.G., A study of some factors which affect the adsorption of titan yellow on magnesium hydroxide, *Anal. Chim. Acta*, 27, 262 (1962).
- 84- Sumbüloğlu, K., *Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik*, Çağ Matbaası, Ankara (1978).

E K L E R

EK : 1. Halka-fırın Yönteminde, Bilinmeyen Halkadaki Madde Miktarlarının Hesaplanması :

Örnek olarak seçilen 2'nolu taş numunesi için kalsiyum miktarının hesaplanması aşağıda gösterilmektedir.

Standart halkanın numarası	Standart çözelti damla sayısı
1	20
2	16
3	8
4	4
5	2
6	1

Bilinmeyen halkalar	Standart halkalar			
	Birinci tahmin		İkinci tahmin	
	Standart halka numarası	Damla sayısı	Standart halka numarası	Damla sayısı
1	IV-V	4-2	5	2
1	VI-V	1-2	5	2
1	IV-V	4-2	5	2
<u>3 damla</u>				<u>6 damla</u>

$$f = \frac{\text{Standart halkadaki toplam damla sayısı}}{\text{Bilinmeyen halkadaki toplam damla sayısı}} = \frac{6}{3} = 2$$

Standart çözelti derişimi : 0.1 mg/ml

Bilinmeyen numune çözeltisinin derişimini bulmak için :

faktör (f) ile standart çözelti derişimi çarpılır = $2 \times 0,1 = 0,2$ mg/ml

Aynı örnek taş numunesi için magnezyum miktarının hesaplanması da aşağıda verilmektedir :

Standart halka numarası	Standart çözelti damla sayısı
1	20
2	16
3	8
4	4
5	2
6	1

Bilinmeyen halkalar	Standart halkalar			
	Birinci tahmin		İkinci tahmin	
	Standart halka numarası	Damla sayısı	Standart halka numarası	Damla sayısı
1	III-IV	8-4	3	8
1	III-IV	8-4	4	4
1	III-IV	8-4	3	8
<hr/>				<hr/>
3 damla				20 damla

Standart çözelti derişimi = 0.05 mg/ml

Bilinmeyen numune derişimi = $\frac{20}{3} \times 0.05 = 0.3$ mg/ml

olarak bulunur.

EK : 2 EDTA Çözeltisinin Normalitesinin Hesaplanması :

EDTA çözeltisinin ayarlanması için primer standart olarak CaCO_3 kullanılmıştır. 0.4 g CaCO_3 500 ml'de çözülmüştür. Bu çözeltiden 50 ml alınarak hazırlanan her bir primer standart çözeltisinin içinde 40 mg CaCO_3 bulunacaktır. Kalsiyum iyonu ve EDTA 1:1 oranında birleştiklerinden, TD:1 olur. Kalsiyum karbonatın molekül ağırlığı da 100 g'dır.

$$N_{\text{EDTA}} \cdot V_{\text{EDTA}} = \frac{a_{\text{CaCO}_3}}{\text{MA/TD}} = \frac{40 \text{ mg}}{100/1}$$

Aynı primer standart ile deneyler 5 kez yapılmıştır :

1) $V_1 = 40 \text{ ml}$	$N_1 = 0.0100 \text{ N}$
2) $V_2 = 40 \text{ ml}$	$N_2 = 0.0100 \text{ N}$
3) $V_3 = 40.05 \text{ ml}$	$N_3 = 0.0100 \text{ N}$
4) $V_4 = 40 \text{ ml}$	$N_4 = 0.0100 \text{ N}$
5) $V_5 = 39.9 \text{ ml}$	$N_5 = 0.0100 \text{ N}$

N ortalama = 0.0100 N EDTA

Taş numunelerinde kalsiyum ve magnezyum iyonları miktarlarının EDTA ile kompleksometrik titrasyon yöntemi ile bulunması :

1 ml 0.01 N EDTA, 0.4 mg kalsiyuma eşdeğerdir. Örnek olarak seçilen 5'nci taş çözeltisinde, kalsiyum ve magnezyum için titrasyonda harcanan EDTA'nın hacmi 3 ml'dir.

1 ml 0.01 N EDTA, 0.4 mg kalsiyuma eşdeğer olduğundan,
3 ml 0.01 N EDTA 1.2 mg kalsiyuma (kalsiyum + magnezyum) eşdeğerdir.

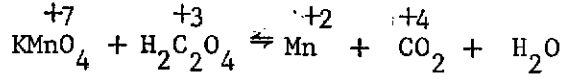
Magnezyum çöktürüldükten sonra kalsiyum iyonu için harcanan EDTA hacmi ise, 2.5 ml'dir.

1 ml 0.01 N EDTA 0.4 mg kalsiyum

2.5 ml 0.01 N EDTA 1 mg kalsiyum olduğunu gösterir. Toplam miktardan, kalsiyum iyonu miktarı çıkarılarak, $1.2 - 1.0 = 0.2$ mg magnezyum iyonunun miktarı hesaplanmıştır.

EK : 3 Potasyum Permanganat Çözeltisinin Normalitesinin Hesaplanması:

KMnO_4 çözeltisinin ayarlanması için primer standart olarak 0.1-0.2 g arasında tartılmış kurutulmuş okzalik asit dihidrat kullanılmıştır. Okzalik asidin molekül ağırlığı 90'dır.



Yukarıdaki eşitlikten anlaşılacağı gibi, okzalik asit için TD:2 olmaktadır.

$$V_{\text{KMnO}_4} \cdot N_{\text{KMnO}_4} = \frac{a_{\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4}}{90/2}$$

Ayarlama için deneyler 5 kez yapılmıştır.

1) $a_1 = 131.55$ mg	$V_1 = 26.6$ ml	$N_1 = 0.1099$ N
2) $a_2 = 118.85$ mg	$V_2 = 24.2$ ml	$N_2 = 0.1091$ N
3) $a_3 = 122.32$ mg	$V_3 = 25.4$ ml	$N_3 = 0.1070$ N
4) $a_4 = 150.93$ mg	$V_4 = 30.7$ ml	$N_4 = 0.10925$ N
5) $a_5 = 182.24$ mg	$V_5 = 36.5$ ml	$N_5 = 0.11095$ N

$$N_{\text{ortalama}} = 0,10924 \text{ N KMnO}_4$$

Taş numunelerindeki okzalik miktarlarının permanganometrik titrasyon yöntemi ile hesaplanması :

1 ml 0.1 N KMnO_4 , 4.5 mg okzalik aside eşdeğerdir.

1 ml 0,10924 N KMnO_4 ise 4,916 mg okzalik aside eşdeğerdir.

Örnek olarak 43 nolu taş numunesindeki okzalik miktarının bulunması :

1 ml 0,10924 N KMnO_4 4,916 mg okzalik aside eşdeğer olup,

örnek için 0.67 ml 0,10924 N KMnO_4 harcandığından 5 ml taş numunesinde

2,8 mg okzalik asit olduğu bulunur.

Okzalik asidin moleköl ağırlığı : 90

Okzalatın moleköl ağırlığı : 88'dir.

90 g okzalik asitte 88 g okzalat bulunduğuna göre, numunede bulunan 2.8 mg okzalik asidin 2.74 mg'ı okzalattır. 1 ml numunedeki okzalat miktarı ise : $2.74/5 = 0.55$ mg'dir.

EK : 4 Standart Eğrilerin Çizilmesinde Yapılan İstatistiksel Hesaplamalar:

Korelasyon katsayısı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (84).

$$r = \frac{\Sigma xy - \frac{(\Sigma x)(\Sigma y)}{n}}{\sqrt{(\Sigma x^2 - \frac{(\Sigma x)^2}{n})(\Sigma y^2 - \frac{(\Sigma y)^2}{n})}}$$

X = Derişim (mg/ml)

y = Absorbans

Korelasyon katsayısının önem kontrolü için H_0 hipotezi, "korelasyon katsayısı tesadüfi bir değerdir" şeklinde kurulmuştur. Bu hipotezi sınamak amacıyla korelasyon katsayısının standart hatası (S_r) bulunarak t_H değeri hesaplanmıştır.

$$t_H = \frac{r}{S_r}$$

Bundan sonra t tablosuna başvurularak 0.05 yanılma olasılığında, $n-2$ (6) serbestlik derecesinde t_T değeri 2.45 olarak saptanmış ve sonuçta hesaplanan t_H değeri t_T değerinden büyük olduğu için H_0 hipotezi reddedilerek korelasyon katsayısının önemli bir değer olduğuna karar verilmiştir.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolünü yapmak için H_0 hipotezi, "doğrusallıktan ayrılış önemsizdir" şeklinde kurulmuş bu hipotezi sınamak amacıyla regresyon varyans analiz tablosu düzenlenmiştir.

TABLO :9. Regresyon varyans analiz tablosu :

Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi (SD)	Kareler toplamı (KT)	Kareler ortalaması(KO)	F_H
OA	n-1	OAKT	OAKO	$\frac{RAKO}{OAKO}$
R	1	b x XYÇT	RKO	
RA	n-2	OAKT-RKT	RAKO	

Tablo 9'da ortalamadan ayrılış OA, regresyon R, regresyondan ayrılış RA, X ve Y nin çarpımlar toplamı XYÇT, ölçüm sayısı n olarak kısaltılmıştır. Bu tablodan yararlanılarak F_H değeri hesaplanmıştır. F tablosunda 0.05 yanılma olasılığında yedi ve altı serbestlik derecelerinde F_T değeri 4,215 olarak saptanmıştır. $F_H < F_T$ olduğundan H_0 hipotezi kabul edilerek doğrusallıktan ayrılışın önemsiz olduğuna karar verilerek, bu değerler için bir doğru çizilebilmiştir.

Doğrusallıktan ayrılışın önem kontrolünde kullanılan çeşitli terimler aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır:

$$b = (\text{regresyon katsayısı}) = \frac{\sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$XYÇT = \sum xy - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}$$

$$OAKT = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}$$

$$RKT = b \times XYÇT$$

$$RAKT = OAKT - RKT$$

$$RKO = \frac{RKT}{RSD}$$

$$OAKO = \frac{OAKT}{OASD}$$

$$F_H = \frac{RAKO}{OAKO}$$

$$RAKO = \frac{RAKT}{RASD}$$

Tablo 4 ve 5'de yöntemlerin karşılaştırılmasında üç yöntemin verdiği sonuçlar arasında fark bulunup bulunmadığını test etmek için iki eş arasındaki farkın önemlilik testi, yöntemler ikişer ikişer gruplandırılarak uygulanmıştır.

Her grup için H_0 hipotezi "iki yöntem arasında fark yoktur" şeklinde kurulmuştur. Her taş için iki miktar arasındaki farklar bulunmuş (D), bu farklar toplanmıştır (ΣD).

$$\bar{D} = \frac{\Sigma D}{n}$$

Fark ortalamasının standart sapması,

$$S = \frac{\sqrt{\Sigma D^2 - \frac{(\Sigma D)^2}{n}}}{n - 1}$$

Standart hatası,

$$S_{\bar{D}} = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad \text{bulunur.}$$

$$t_H = \frac{\bar{D}}{S_{\bar{D}}}$$

0.05 yanılma olasılığında, 9 serbestlik derecesinde t_T değeri 2,26'dır. Aynı testin her grupta uygulanması sonucu, $t_H < t_T$ bulunmuş ve H_0 hipotezleri kabul edilmiştir. Böylece, üç yöntem arasında fark bulunmadığı gösterilmiştir.

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Halka-fırın yönteminde uygulanan analiz şeması	4
Şekil 2. Çekirdek oluşumu ve partikül büyüme hızının aşırı doy- muşluk ile değişimi	15
Şekil 3. Halka-fırın cihazı	41
Şekil 4,5. Halka-fırın yönteminde analizleri yapılan standart kal- siyum çözeltileri ve taş numuneleri	57,58
Şekil 6,7. Halka-fırın yönteminde analizleri yapılan standart magnezyum çözeltileri ve taş numuneleri	59,60
Şekil 8. Halka-fırın yönteminde fosfat ve amonyum için yapılan analizler	61
Şekil 9. Kalsiyum ve magnezyumun toplam olarak eriokrom siyahı T belirteci ile yapılan analizler	67
Şekil 10. Kalsiyum + magnezyum standart eğrisi	68
Şekil 11. Kalsiyum iyonun kalkon belirteci ile yapılan ana- lizi	69
Şekil 12. Kalsiyum standart eğrisi	70
Şekil 13. Magnezyum iyonun titan sarısı belirteci ile yapılan analizi	72
Şekil 14. Magnezyum standart eğrisi	73

TABLOLARIN LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Kalsiyum iyonu için yapılan standart hesaplamalar....	45
Tablo 2. Böbrek taşlarındaki kalsiyum ve magnezyum miktarlarının halka-fırın yöntemi ile analiz sonuçları	62
Tablo 3. Böbrek taşlarındaki fosfat, okzalat ve amonyum iyonlarının halka-fırın yöntemi ile analiz sonuçları ...	65
Tablo 4. Örnek taş numunelerindeki kalsiyum iyonu miktarlarının halka-fırın, titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemler ile elde edilen analiz sonuçlarının karşılaştırılması	71
Tablo 5. Örnek taş numunelerindeki magnezyum iyonu miktarlarının, halka-fırın, titrimetrik ve spektrofotometrik yöntemler ile elde edilen analiz sonuçlarının karşılaştırılması	74
Tablo 6. Örnek taş numunelerindeki okzalat miktarlarının, permanganometrik titrasyon yöntemi ile elde edilen analiz sonuçları	75
Tablo 7. Taşlı hasta idrarlarından halka-fırın yöntemi ile elde edilen sonuçların, normal kişi idrarındaki değerlerle karşılaştırılması	76
Tablo 8. Spektrofotometrik analizleri yapılan kalsiyum, magnezyum ve kalsiyum ile magnezyum iyonları için çizilen standart eğrilerin korelasyon ve regresyon katsayıları ile doğrusalıktan ayrılışın önem kontrolü için yapılan hesaplamaların sonuçları	77
Tablo 9. Regresyon varyans analiz tablosu	107

ÖZGEÇMİŞ

1958 yılı Aralık ayında Ankara'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi tamamladıktan sonra 1975 yılında başladığım Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesinden 1980 yılı Haziran ayında mezun oldum. Aynı yıl Eylül ayında Hacettepe Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya bölümünde asistan olarak göreve başladım. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmalarımı sürdürmekteyim.