

93825

Anadolu Üniversitesi
Merkez Kütüphane

Anadolu Üniversitesi
Merkez Kütüphane

KİMYASAL VE BİYOLOJİK ORTAMLARDAKİ KLORÜR
İYONU TAYİNİ İÇİN ÇEŞİTLİ YÖNTEMLERİN
KARŞILAŞTIRILMASI.

Kim. Müh. Göksel ALTIOKKA

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

Danışman : Prof. Dr. Muzaffer TUNÇEL

Ağustos 1990

SUMMARY

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

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

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

TEŞEKKÜR

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

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

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

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

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

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

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

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

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Şekil</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|--------------|
| 3.1. $2.8 \times 10^{-3}M$ derişimli NaCl çözeltilisinin gerekli işlemlerden sonra kaydedilen spektrumu | 11 |
| 3.2. Doygun $Hg(SCN)_2$ den açığa çıkan SCN^- iyonlarının renklendirilmesine dayalı kalibrasyon eğrileri | 12 |
| 3.3. Standart NaCl çözeltilerine karşı okunan absorbans değerleri | 16 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

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

1. GİRİŞ VE AMAÇ

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

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

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

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

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Klorür'ün Bulunuşu

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

2.2. Klorür'ün Farmakolojik Özellikleri

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

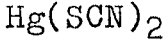
Zsigray ve Bartusz (24) kulometrik ve termometrik çöktürme titrasyonları kullanarak erginmiş kalsiyum nitrat tetrahidrattaki klorür, bromür ve iyodür iyonlarının tayinini gerçekleştirmişlerdir. Titrasyon boyunca sıcaklık değişimlerini bir kaydediciyle gözleyerek, akım geçişinin sıcaklık etkisini azaltmak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

3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

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

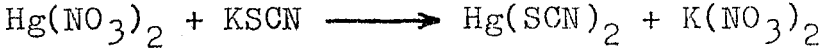
Sodyum klorür
 Demir (III) nitrat
 Potasyum kromat
 Gümüş nitrat
 Civa (II) nitrat
 Nitrik asit
 Difenil karbazon
 Etanol
 Bromfenol mavisi



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

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

Oluşan çökelti G4 cam krozeden süzüldü. Yıkama su-
larında NO_3^- ve K^+ iyonları görülme-yene dek yıkandı, kuru-
tuldu ve desikatörde saklandı. Reaksiyon denklemi aşağı-
da verilmiştir.



3.2. Kullanılan Aletler

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

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

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

3.3. Yapılan Miktar Tayin Yöntemleri

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

3.3.1. UV Spektrofotometrik Yöntem

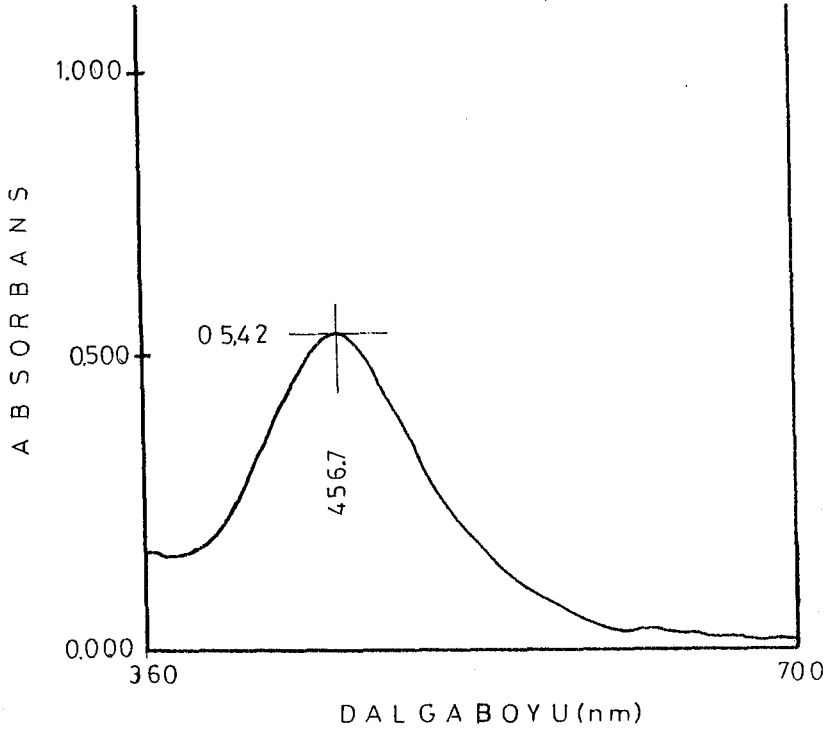
Bu yöntemde standart eğrinin çizilebilmesi için,
 8×10^{-3} N'lik NaCl çözeltisi hazırlanmış, bu çözeltiden
tüplere 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 ve 4 ml alınmış, $\text{Hg}(\text{SCN})_2$
nin doygun çözeltisinden her bir tüpe 5'er ml konulup iyi-
ce çalkalanmıştır. Açığa çıkan SCN^- iyonunun renk vermesi

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

Çizelge 3.1 Klorür konsantrasyonlarına karşılık okunan absorbands değerleri

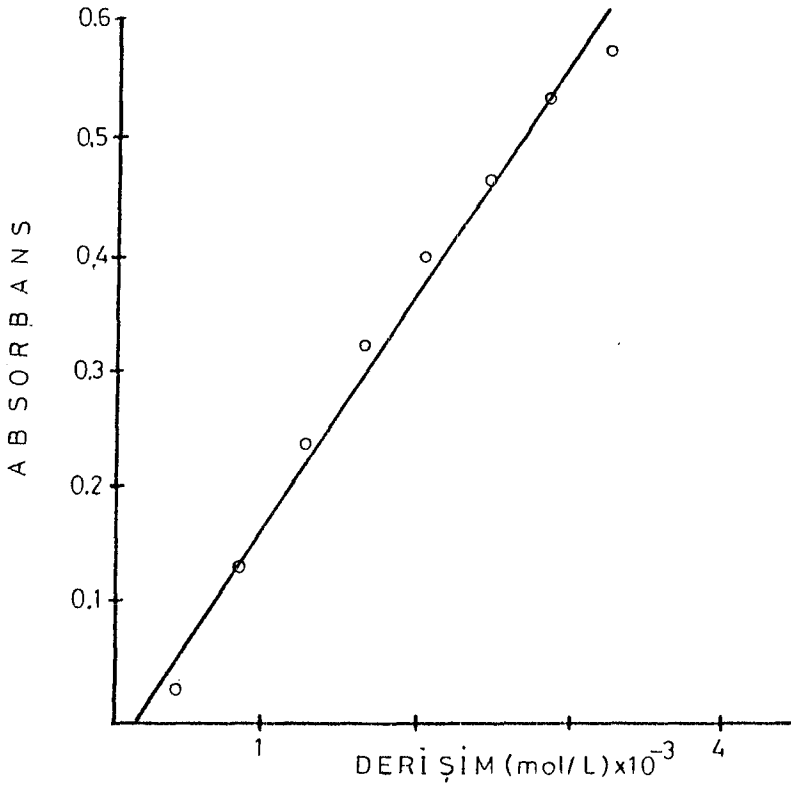
| NaCl (ml) | Cl^- konsantrasyonu | Absorbans |
|-----------|------------------------------|-----------|
| 0.5 | 0.4×10^{-3} | 0.012 |
| 1.0 | 0.8×10^{-3} | 0.125 |
| 1.5 | 1.2×10^{-3} | 0.231 |
| 2.0 | 1.6×10^{-3} | 0.318 |
| 2.5 | 2.0×10^{-3} | 0.390 |
| 3.0 | 2.4×10^{-3} | 0.458 |
| 3.5 | 2.8×10^{-3}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

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



Şekil 3.1 2.8×10^{-3} M derişimli NaCl çözeltisinin gerekli işlemlerden sonra kaydedilen spektrumu

Çizelge 3.1'deki derişimlere sahip NaCl çözeltilerinden hareketle, işlemler bölümünde anlatıldığı gibi hazırlanan standartların 456.7 nm'deki absorbanları okunmuştur. Derişime karşı absorban değerlerinin oluşturduğu ilişki Şekil 3.2'de gösterilmektedir.



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

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

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

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

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

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

Yöntem serumu aşağıdaki gibi uygulanmıştır :

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

Çizelge 3.2 Serum numunelerinde bulunan klorür miktarları

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

Ortalama : 91.775
 Standart sapma : 1.316
 Rölatif standart sapma : % \pm 1.434

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

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

Çizelge 3.3 İdrar numunelerinde bulunan klorür miktarları

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

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

3.3.2 Atomik Absorpsiyon Yöntemi

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

lenebilir.

Bu çalışmalar şöyle yapılabilir :

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

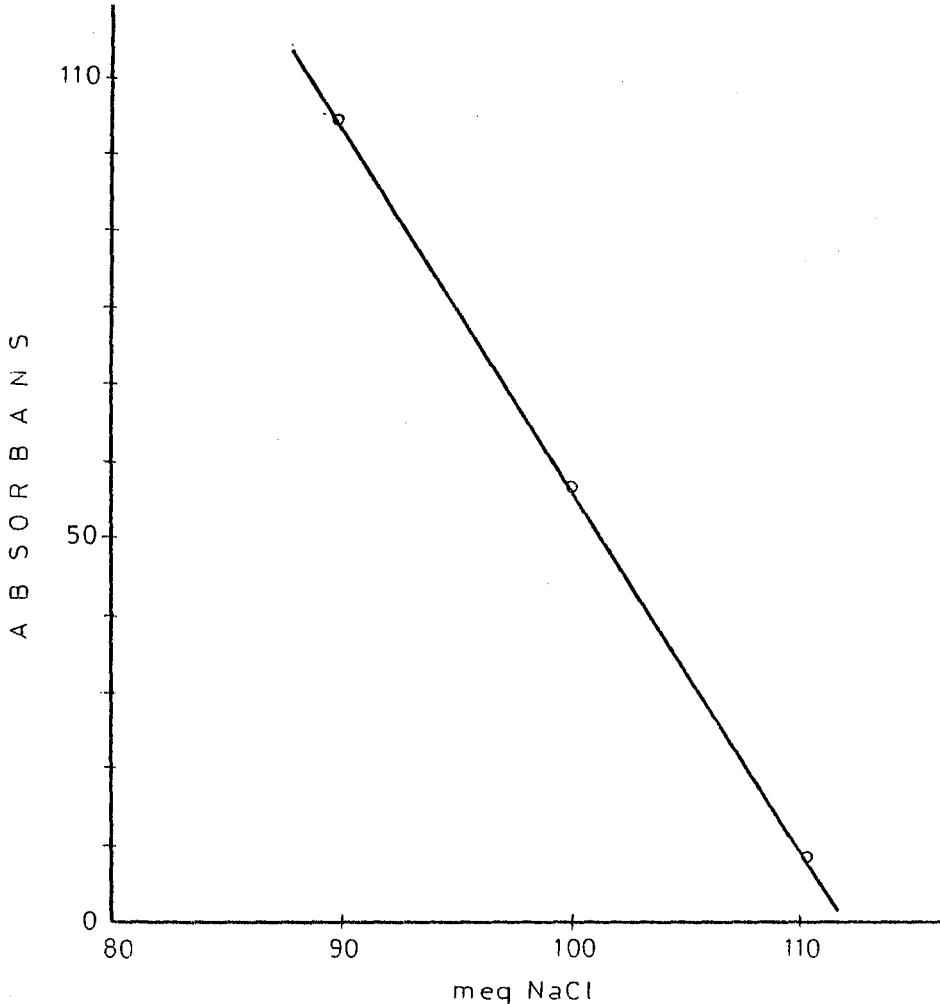
Önce stok çözeltiler hazırlanmıştır. 1 gram dolayında tam tartılan gümüş nitrat üzerine 35 ml derişik HNO₃ konulmuş ve 1 litreye tamamlanmıştır, bu çözeltinin derişimi 5.88×10^{-3} M'dır. 1 N NaCl çözeltisi ise 5.845 gram NaCl nin tartılıp 100 ml'ye tamamlanması sonucu elde edilmiştir.

Kalibrasyon eğrisinin hazırlanışında aşağıdaki yol izlenmiştir. 9, 10, 11 ml 1 N NaCl çözeltisi alınmış ve su ile 100 ml ye tamamlanmıştır. Böylece 90, 100 ve 110 meq Cl⁻/L derişiminde çözeltiler elde edilmiştir. Bu üç standart çözeltinin her birinden 0.5 ml alınmış üzerine 9.5 ml 5.88×10^{-3} M AgNO₃ katılmış, 3 dakika reaksiyonun tamamlanması beklenmiş ve santrifüj edilmişlerdir. Üstteki berrak çözeltilerden 90 meq Cl⁻/L içeren çözelti için 1/100, 100 meq Cl⁻/L içeren çözelti 1/50, 110 meq Cl⁻/L içeren çözelti için 1/10, seyreltilerek atomik absorpsiyonla okumalar yapılmıştır. Çözeltilerin seyrelme oranları birbirlerinden farklı olduğundan, herbir çözelti içerisindeki gümüş miktarına karşı gelen absorbans değerlerinin bulunması gerekmektedir.(Çizelge 3.4). Düzeltilmiş değerlerin aletten alınan yanıtlarla bir ilişkisi bulunmayıp, hesaplarda kolaylık sağlayıcı amaçlarla kullanılan değerlerdir.

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

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

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



Şekil 3.3 Standart NaCl çözeltilerine karşı okunan absorbands değerleri

Yukarıdaki değerler kullanıldığında ;

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

kalibrasyon denklemi elde edilmektedir.

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

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

Çizelge 3.5 Serumda bulunan klorür iyonlarına karşı okunan absorban değerleri

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

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

Çizelge 3.6 İdrarda bulunan klorür iyonlarına karşı okunan absorbans değerleri

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

Ortalama : 218.6
 Standart sapma : 3.26
 Rölatif standart sapma : % [±] 1.49

3.3.3 Civa Nitratla Titrimetrik Tayin

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ortalama : 212.8
 Standart sapma : 0.750
 Rölatif standart sapma : % \pm 0.352

3.3.4 Civa Nitratla Alkollü Ortamda Titrimetrik Tayin

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.3.5 Gümüş Nitratla Klorür İyonlarının Tayini

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

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

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

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

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

Ortalama : 100.66
 Standart sapma : 1.032
 Relatif standart sapma : % \pm 1.025

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

Çizelge 3.14 Gümüş nitrat ile serumdaki klorür tayini sonuçları

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

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

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

Çizelge 3.15 Gümüş nitrat ile idrardaki klorür tayini sonuçları

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

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

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

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

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

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

Çizelge 4.1 Volumetrik yöntemlerle ortalama klorür miktarları

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

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

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

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

Çizelge 4.2 Volumetrik yöntemlerle serum ve idrardaki ortalama klorür miktarları

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

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

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

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

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

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

Belirtilen yöntemle çok az numunede duyarlı tayin-

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

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

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

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

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

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

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

KAYNAKLAR DİZİNİ

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

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

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

