

## KLOR ANALİZİ İÇİN YENİ BİR SPEKTROFOTOMETRİK METOT ÇALIŞMASI

Ali Muhtar Tiftik<sup>1</sup>

Leyla Kalaycıoğlu<sup>1</sup>

Firuze Kurtoğlu<sup>1</sup>

### The Study on the New Spectrophotometric Method For Chlorid Determination

**Summary:** The concentrations of the solutions, used in Mohr method (titrimetric method for chloride), were changed and evaluated in the different pathway to obtain new spectrophotometric method for chlorid analyses. The principle of the method is based on two reactions. First, all chlorid precipitate with the silver, and second, the rest of the silver react with chromate ions. After centrifugation, the restness of the chromate in the supernatant of the solution is related to the chloride concentration in the test tubes and chloride concentration is calculated via optic density of the rest of the chromate. Since no chloride added in the reagent blank tube, the differences of the optic density of the chromate in reagent blank and test tubes are related to the chloride concentration directly. In a number observations for the analyses of the  $K_2CrO_4$ , it is found that the ideal wavelenght is 380 nm.

**Key words:** Chlorid, determination, spectrophotometric method.

**Özet:** Klor analizi için titrimetrik bir metot olan Mohr metodunda kullanılan kimyasal maddeler, farklı konsantrasyonlarda ve farklı bir perspektif içerisinde değerlendirilerek, spektrofotometrik bir metot ortaya çıkartılması için çalışıldı. Numunelerdeki klorun reaksiyon ortamında bulunan gümüş ile reaksiyona girmesi ve kalan gümüşün de ortama ilave edilen kromatla reaksiyona girmesi, ve neticede kalan kromat konsantrasyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi testin temel prensibini teşkil eder. Hazırlanan reagent blanka klor ilave edilmediğinden dolayı reagent blank ile test tüplerindeki kromat konsantrasyonları arasındaki farklar, test tüplerindeki klor konsantrasyonları ile doğru ilişkiye sahiptir. Potasyumbikromatın optik dansitesinin ölçülebilmesi için yapılan denemeler neticesinde en uygun dalga boyunun 380 nm olduğu tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** Klor, analiz, spektrofotometrik metod.

### Giriş

Halojenler, VIIA grubu elementlerden olup 2 atomlu moleküller olarak bulunurlar. Halojenlerden bir tanesi olan Cl'un atom no'su 17 ve ağırlığı da 35.5 olup biyolojik sıvılarda önemli fonksiyonlara sahiptir (Uyar, 1984; Smith ve ark., 1986; Kaneko, 1989; Chang 1991).

Intrasellüler sıvıların başlıca anyonları fosfat ( $PO_4^{2-}$ ) ve proteinat iken ekstrasellüler sıvıların başlıca anyonları  $Cl^-$  ve  $HCO_3^-$  dir (Smith ve ark. 1986, Chang 1991).  $Cl^-$  aynı zamanda asit-baz dengesi ile de ilişkilidir ve hastalık hallerinde asit-baz dengesinin değerlendirilmesinde diğer analizlere ilaveten  $Na^+$ ,  $Cl^-$  ve  $HCO_3^-$  gibi elektrolit konsantrasyonları da ölçülür (Smith ve ark., 1986).

İdrarla atılan klor-konsantrasyonu günlük alı-

nan miktarla direkt ilişkilidir, tuzsuz diyetle beslenenlerde belirgin olarak idrar Cl konsantrasyonu azalır. İdrarla günlük olarak atılan Cl-miktarının 100-250 mEq arasında değişir (Smith ve ark., 1986).

Sıvılardaki klor miktarının hesaplanmasında kullanılan metotlardan bir tanesi titrimetrik analiz metodudur (Fisher ve Peters 1968, Fritz ve Schenk 1969, Smith ve ark. 1986). Titrimetrik metotda difenilkarbozin'in indikatör olarak kullanıldığı merkür nitrat metoduna ilaveten Mohr metodu yüzyılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır ve titrasyonda hatalı sonuçların alınma ihtimali her zaman için mümkündür (Fisher ve Peters 1968, Fritz ve Schenk 1969). Bu hataları, analizi yapan kişiye bağlı (dönüm noktasının tespiti) ve ortam pH'sı ile madde konsantrasyonlarına bağlı hatalar olarak sınıflandırabiliriz. Titrimetrik metotlara ilaveten, pren-

sibi merkürü tiyosiyanatla klorun reaksiyonuna dayalı spektrofotometrik klor analizi için ticari kitler de bulunmaktadır (Bioclinika, Sclavo). Sunulan bu çalışmada da Potasyum bikromat üzerinden klor miktarının analizini sağlayabilecek yeni bir spektrofotometrik metot üzerinde çalışılmıştır.

### Materyal ve Metot

#### Çözeltiler

1- AgNO<sub>3</sub> (% 3.40g)

2- K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> (% 0.97g)

3- Stok klor standardı 10 g/L

#### Cihazlar:

1-Schimadzu UV-VIS ve perkin-elmer spektrofotometer,

2-Vortex,

3-Santrifüj

#### Metodun prensibi:

İki basamaklı reaksiyon dizisini takiben ortamda kalan potasyumbikromat'ın optik dansitesinin ölçülerek numunelerdeki klor miktarının bulunması testin temel prensibini teşkil etmektedir. İlk basamakta ortamda bulunan gümüş nitrat ile numuneden gelen klor, reaksiyona girerek AgCl'ü (beyaz çökelti) şekillendirir. Artan gümüşnitrat da ikinci adımda ortama ilave edilen potasyumbikromat ile gümüşkromat'ı (kırmızı çökelti) oluşturmak üzere reaksiyona girer. Santrifüj takiben ortamda kalan potasyumbikromat'ın optik dansitesi, birinci adımda gümüş nitrat ile reaksiyona giren klor konsantrasyonu ile doğrusal ilişkiye sahiptir. Reaksiyon adımları aşağıdaki gibidir;



Bu adımdan sonra artan Ag, ilave edilen kromat ile reaksiyona girer.



Bu reaksiyondan sonra santrifüjü takiben süpernatant içerisinde kalan potasyum bikromatın optik dansitesi ölçülür. Ölçülen optik dansite değerinden reagent blank (referans tüp) tüpünden elde edilen optik dansite değeri çıkarıldığında elde edilen fark ortama giren klor konsantrasyonu ile ilişkili bulunur.

Yukarıda açıklanan reaksiyonlardan farklı ola-

rak, reagent blank tüpüne klor ilave edilmediğinden dolayı bu tüpteki reaksiyon da aşağıdaki gibidir.



Reagent blank (referans) tüpte kalan kromat konsantrasyonu, test tüpündeki kromat konsantrasyonundan, ortama giren klor miktarı kadar azdır ve dolayısı ile optik dansiteleri arasındaki fark doğrusal olarak klor konsantrasyonu ile ilişkilidir. Bundan dolayı referans tüpteki (reagent blank) reaksiyondan sonra okunan optik dansite değeri test tüpünde iki adımlık reaksiyondan sonra okunan optik dansite değerinden çıkartılır.

Görüldüğü gibi metotda potasyum bikromatın spektrofotometrik olarak ölçümü yapıldığından, önce denemelere potasyum bikromatın absorpsiyon maksimumu'nun tespit edilmesi ile başlandı.

K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>'ın absorpsiyon maksimumunun bulunması

Bu amaçla, başta distile su olmak üzere işlemlerde kullanılan bütün kimyasal maddelerin spektrum grafikleri Shimadzu spektrofotometrede alındı ve K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>'ın absorpsiyon piki üzerine bir etki olup olmadığı araştırıldı. Tartışma ve sonuç bölümünde anlatıldığı gibi yapılan denemeler neticesinde K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>'ın absorpsiyon maksimumunun 380 nm olduğu ve bu dalga boyunda ideal ölçümün yapılabileceği anlaşıldı.

Tespit edilen dalga boyunda klor analizi işleminin uygulanışı

Bu amaçla bir seri test tüpü alınarak bir tanesi reagent blank, diğerleri test, ve standart olarak işaretle edilir. Blank, test ve standart tüplerine 5'er ml distile su konulduktan sonra tabloda görülen şekilde

	Referans blank	Standart	Numune
Distile su	5 ml	5 ml	5 ml
Gümüş nitrat	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Numune	-	-	50 µl
Standart (% 500 mg)	-	50 µl	
Karıştırılır (vortekste), 5 dk. beklenir ve üzerine			
Potasyum bikromat	0.1 ml	0,1 ml	0.1 ml

Tekrar karıştırılır, 3500 devirde 5 dakika santrifüj edilir, standart ve numune tüplerinin süpernatantlarının optik dansiteleri, referans blank süpernatantının optik dansitesine karşı 380 nm'de okunur.

işlemler yapılır. 3500 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüjü takiben tüplerin üstünde, kromatin bulunduğu berrak, sarı renkli supernatant otomatik pipet vasıtası ile alınarak 380 nm'de reagent blanka karşı test ve standartın optik dansiteleri ölçülür.

Klor konsantrasyonu hazırlanacak olan standart eğri grafiğinden belirlenebileceği gibi aşağıdaki formülden de hesaplanabilir.

$$\frac{\text{Testin optik dansitesi}}{\text{Standartın optik dansitesi}} \times \text{Standart kons.} = \% \text{ mg klor}$$

Klorun konulmadığı reagent blank tüpünde gümüşün tamamının kromatla reaksiyona girdiği, test tüplerinde ise klor miktarı kadar gümüşün harcanmış olduğu dikkate alınır; reagent blank ile karşılaştırıldığında, klor miktarı kadar da kromatin test ve standart tüplerinde kalacağı ve bu tüplerdeki kromat konsantrasyonunun klor konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişkiye sahip olacağı görülür. Bundan hareketle kromatin optik dansitesinin ölçülmesiyle klor konsantrasyonlarının bulunması testin temel prensibini teşkil eder.

#### Standart Eğri Çizimi

Litresinde 10 g Cl ihtiva eden stok klor çözeltisinden dilusyonla % 50, 100, 200, 300, 400 ve 500 mg konsantrasyonlarda klor çözeltileri hazırlandıktan sonra bir seri santrifüj tüpü alındı ve 1.tüp reagent blank diğerleri de standart 1, 2, 3,4,5 ve 6 olarak işaretlendi. Daha sonra yukarıdaki tabloda gösterilen işlemler uygulandı. Elde edilen supernatantların optik dansiteleri Perkin-Elmer spektrofotometrede, 0.7 cm ışık yoluna sahip küvetlerde okundu ve standart eğri grafiği (Şekil 10) hazırlandı.

#### Bulgular

Absorbsiyon maksimumunun tayini için aşağıda belirtilen çözeltilerle Schmadzu spektrofotometer'de yapılan spektrum taramalarında; distile su,  $K_2CrO_4$ ,  $K_2CrO_4+AgNO_3$ ,  $AgNO_3$ ,  $NaCl$ ,  $KCl$ ,  $AgNO_3+KCl$  ( $AgCl$ ), ve  $K_2CrO_4+KCl$  çözeltilerinin spektrumları Şekil 1,2,3,4,5,6,7 ve 8 de, Perkin-Elmer spektrofotometresinde de artan kromat konsantrasyonuna göre yapılan tarama grafiği Şekil 9'da gösterilmiştir. Standartlarla yapılan

ölçüm sonuçlarından elde edilen standart eğri grafiği de Şekil 10'da sunulmuştur.

#### Rekoveri testi

Perkin-Elmer spektrofotometresinde gerçekleştirilen rekoveri testlerinin çoğunda % 80'in üzerinde başarı elde edilmiştir. Uygulanan rekoveri testlerinden bir tanesi aşağıda anlatılmıştır.

Rekoveri testinde kullanılacak olan idrardaki klor konsantrasyonunu tayin edilmesi amacıyla idrar 1/8 oranında dilue edildi. Yapılan analiz sonucunda 1/8 oranında sulandırılmış idrarda % 243.7 mg konsantrasyonunda Cl tespit edildi.

Daha sonra 1/8'lik sulandırmadan 1,ve 2 olarak işaretlenmiş iki ayrı tüpe 1'er ml alındı. % 1 g'lık Klor çözeltisinden 1 numaralı tüpe 200 µl, 2 numaralı tüpe de 400 µl ilave edildi. Böylece aşağıda hesaplandığı gibi 1 ve 2 numaralı tüplerdeki klor konsantrasyonları %369.2 mg ve 459.3 mg oldu.

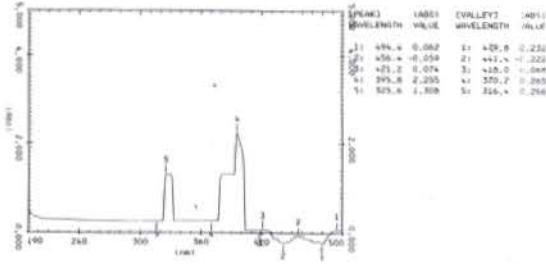
$$\begin{aligned} 1 \text{ Nolu tüp: } 1/8 \text{ lik idrar } 1.0 \text{ ml} &= 2.43\text{mg/ml} \\ \% 1 \text{ g Cl } 0.2 \text{ ml} &= 2.0 \text{ mg}/0.2\text{ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 1.2 \text{ ml} &= 4.43 \text{ mg}/1.2 \text{ ml} = \% 369.2 \text{ mg Cl} \\ 2 \text{ Nolu tüp: } 1/8 \text{ lik idrar } 1.0 \text{ ml} &= 2.43\text{mg/ml} \\ \% 1 \text{ g Cl } 0.4 \text{ ml} &= 4.0 \text{ mg}/0.4\text{ml} \end{aligned}$$

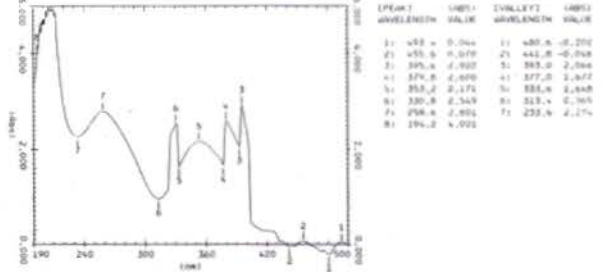
$$1.4 \text{ ml} = 6.43 \text{ mg}/1.4 \text{ ml} = \% 459.3 \text{ mg Cl}$$

Daha sonra bir seri tüp alınarak blank, standart (% 500mg), test 1 ve test 2 olarak işaretlendi. Her birine 5'er ml distile su konulduktan sonra materyal ve metotta anlatılan şekilde işlemler uygulandı. İşlem sonunda optik dansiteleri okunarak klor miktarları belirlendi. Aşağıdaki tabloda da görüldüğü gibi elde edilen rakamlardan rekoveri oranları % 91 ve % 92 olarak hesaplandı.

Tüp no	Optik dansite	Ölçülen konsantrasyon	Beklenen konsantrasyon	Rekoveri oranı
Standart (%500 mg)	0.177			
Test 1	0.119	336.15 mg	369.2 mg	% 91.05
Test 2	0.150	423.72 mg	459.3 mg	% 92.24



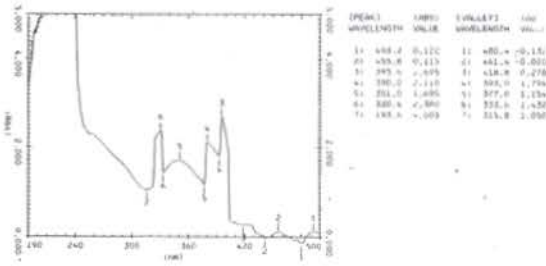
SAMPLE : DISTİLE SU  
 CONC. :  
 COMMENT :  
 REFERENCE :  
 PATHLENGTH : 1cm  
 SPEED : 4007  
 DATE :  
 SPLIT : 2.0  
 ANALYST :



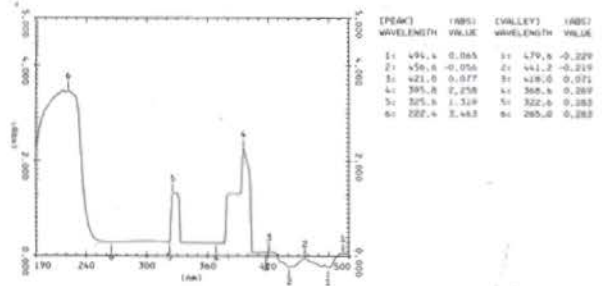
SAMPLE : K2CO3 (Suda coz.)  
 CONC. :  
 COMMENT :  
 REFERENCE :  
 PATHLENGTH : 1cm  
 SPEED : 4007  
 DATE :  
 SPLIT : 2.0  
 ANALYST :

Şekil 1 - Distile su'nun spektrum grafiği

Şekil 2 - Potasyumbikarbomat çözeltisinin spektrum grafiği



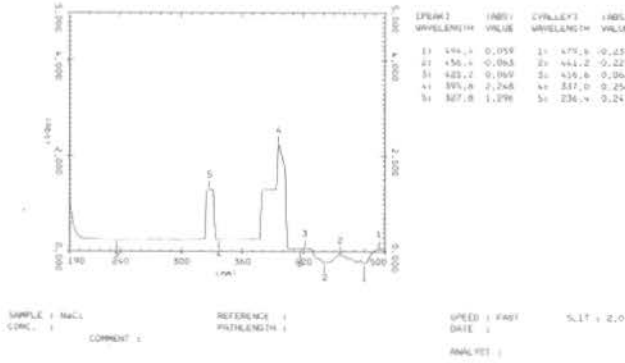
SAMPLE : K2CO3+AgNO3  
 CONC. :  
 COMMENT :  
 REFERENCE :  
 PATHLENGTH :  
 SPEED : 4007  
 DATE :  
 SPLIT : 2.0  
 ANALYST :



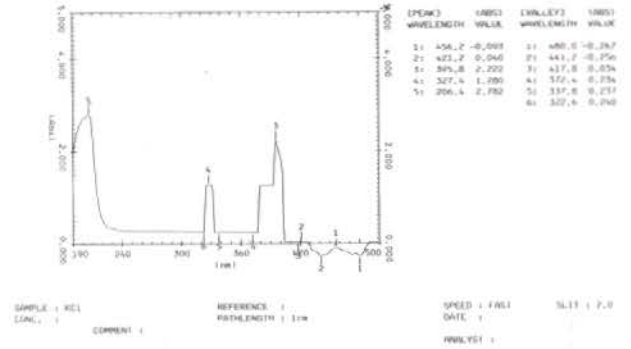
SAMPLE : AgNO3  
 CONC. :  
 COMMENT :  
 REFERENCE :  
 PATHLENGTH :  
 SPEED : 4007  
 DATE :  
 SPLIT : 2.0  
 ANALYST :

Şekil 3 Potasyum bikarbomat + Gümüş nitrat çözeltisi supernatantının spektrum grafiği

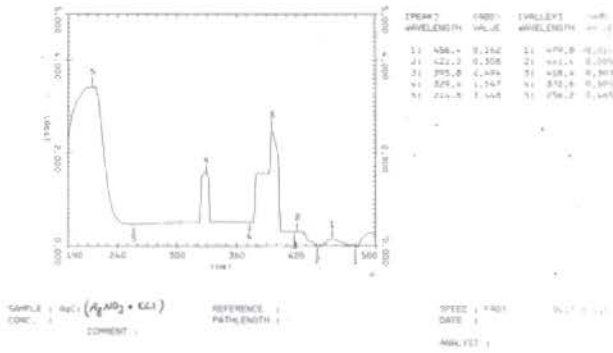
Şekil 4 - Gümüş nitrat çözeltisinin spektrum grafiği



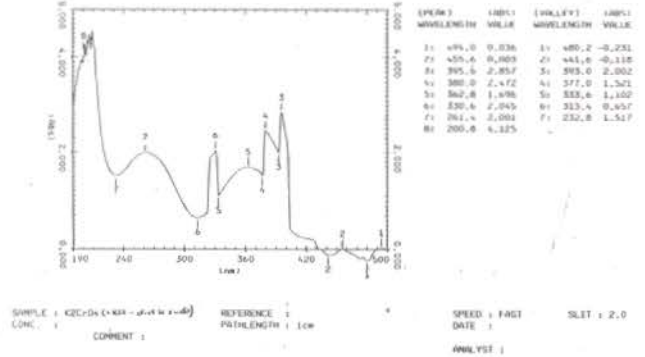
Şekil 5 Sodyum klorür çözeltisinin spektrum grafiği



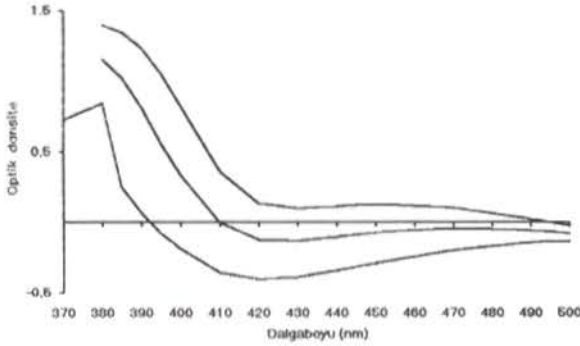
Şekil 6 - Potasyum klorür çözeltisinin spektrum grafiği



Şekil 7 - Gümüş nitrat + Potasyum klorür çözeltisi süpernatantının spektrum grafiği



Şekil 8 - Potasyum bikromat + potasyum klorür çözeltisinin spektrum grafiği



Şekil 9 - Üç farklı konsantrasyonda hazırlanan potasyum bikromat çözeltisinin Perkin-Elmer spektrofotometresinde 370 - 500 nm dalga boyları arasındaki spektrum grafiği

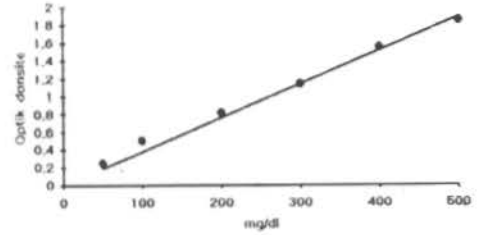
### Tartışma ve Sonuç

$K_2CrO_4$ 'nin absorpsiyon maksimumunun bulunması:

$K_2CrO_4$ 'in absorpsiyon maksimumu için bütün denemeler Shimadzu spektrofotometer'de gerçekleştirildi. Bu metotta Cl tayininde  $K_2CrO_4$ 'in optik dansitesinin ölçülmesi testin temel prensibini teşkil ettiği için öncelikle  $K_2CrO_4$ 'in absorpsiyon maksimumu tayin edilmeye çalışıldı. Bu amaçla distile suda çözüldürülen  $K_2CrO_4$ 'in tam saha spektrumu alındı ve elde edilen grafikte (grafik gösterilmedi) aranılan sahanın 190-500 nm arasında olduğu gözlemlendi. Bunun üzerine bundan sonraki bütün denemeler bu sahada gerçekleştirildi.

Çalışma ortamı distile su olacağı için önce distile su (Şekil 1) ve sonrada  $K_2CrO_4$ 'in (Şekil 2) spektrumları alındı. Distile su grafiğinde elde edilen piklerin sonraki denemelerde boş küvet ve küvetsiz yapılan spektrumlarda da elde edilmesi üzerine bu piklerin cihazın kendisine ait pikler olduğu tespit edildi. Ancak çalışma süresince ifade kolaylığı için bu piklerden distile su pikleri olarak bahsedildi.

Şekil 2 incelendiğinde 3 nolu pik'in (wv:395.6) Şekil 1.deki 4 nolu pik'e (wv:395.8) benzer olduğu



Şekil 10 - Klor'un standart eğri grafiği.

4,5,6,7 ve 8 nolu pik'lerin ise farklı olduğu görüldü. Aranılan pik'in bunlardan hangisi olabileceği, ortama ilave edilen kimyasal maddeler ile idrar ve serumdan ortama girecek olan maddelerin bu piklerden hangilerini etkileyebileceğinin anlaşılabilmesi için yeni denemeler gerçekleştirildi.

Bunun için ilk önce  $K_2CrO_4 + AgNO_3$  reaksiyonundan sonra elde edilen supernatant'ın spektrumu alındı (Şekil 3).  $AgNO_3$ 'ün devreye girmesiyle Şekil 2.de 6 nolu pik'in solunda kalan, 190-300 nm arasında bulunan 7 ve 8 nolu piklerin etkilendiği tespit edildi. 4,5 ve 6 numaralı piklerde ise değişme görülmedi. Bunu takiben distile suda çözüldürülen  $AgNO_3$ 'ün spektrumu alındı (Şekil 4). Bu maddeden elde edilen grafikteki (Şekil 4.) 4 ve 5 nolu pik'lerin Şekil 1.deki distile suya benzer olduğu, Şekil 2 ve 3.deki 4,5 ve 6 numaralı piklere ise  $AgNO_3$ 'ün etkisinin olamayacağı görüldü.

Ortama standart olarak ilave edilen NaCl ve KCl ile ortamda şekillenen  $AgCl$ 'ün etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla alınan spektrumlarda (Şekil 5,6 ve 7); NaCl'nin tamamen etkisiz olacağı (Şekil 5) ve spektrumunun distile su ile benzerlik gösterdiği, KCl'den elde edilen grafikte ise (Şekil 6) NaCl'den farklı olarak UV sahada pik verdiği ve sadece bu sahadaki pikleri etkileyebileceği, diğer kısımlarının ise distile suya benzediği, dolayısı ile bu ikisinin Şekil 2'de bahsedilen pikler (4,5 ve 6 nu-

maralı pikler) üzerine olumsuz etkiye sahip olmayacakları tespit edildi.  $AgNO_3 + KCl$  supernatantının da (Şekil 7) Şekil 4 ve 6.daki gibi UV sahada pik verdiği ve diğerlerinde olduğu gibi sadece UV sahayı etkileyebileceği gözlemlendi.

$K_2CrO_4 + KCl$ 'ün spektrum grafiğinin ise (Şekil 8) 2 numaralı grafiğe benzerlik gösterdiği, dolayısı ile UV saha haricinde olumsuz etkiye sahip olamayacağı tespit edildi.

İdrarda klor analizinde, çalışma ortamına ilave edilen idrar muhtevassından ileri gelebilecek hataların tespiti amacıyla distile suya idrar ilave edilerek spektrumu alındı (Şekil 9). Şekil 9 incelendiğinde distile suyun grafiğine (Şekil 1) benzer olduğu, Şekil 2.de 4,5 ve 6 numaralı piklerin bulunduğu sahada etkili olmadığı, ancak, UV sahada yüksek bir pik verdiği ve bu sahadaki çalışmalarını etkileyebileceği görüldü.

Testte kullanılan bütün kimyasal maddelerden alınan spektrum grafikleri değerlendirildiğinde; 2 nolu grafikteki 4,5 ve 6 numaralı pik'lerin bulunduğu dalga boylarında başka pik şekillenmediği, bu yüzden bu piklerin etkilenmeyecekleri, dolayısı ile çalışılacak dalga boyuna ait pik'in bu 3 tanesinden biri olabileceği düşünüldü. Optik dansite değerinin en yüksek olması değeriyle Şekil 2.deki 4 nolu pik üzerinde duruldu, ancak, her ihtimale karşı diğer pikler son kez daha denemeye alındı.

Deneyin metodu olarak anlatılan işlemler farklı klor standartları kullanılarak yapıldı ve elde edilen supernatantların optik dansiteleri Şekil 2.deki 7 ve 8 numaralı pik'lerin dalga boylarında ölçüldü. Elde edilen optik dansite rakamları arasında uyumsuzlukların görülmesi neticesinde bu pik'lerin kullanımından vazgeçildi. Daha sonra standartlar yeniden hazırlanarak Şekil 2.deki 4,5 ve 6 numaralı piklerin dalga boylarında okundu ve 4 numaralı pikin dalga boyundaki (Şekil 2. de 379.8nm, Şekil 3.de 380nm, Şekil 8.de 380nm) okumalardan elde edilen verilerin uyumlu oldukları çizilen standart eğri grafiğinde (Şekil 10) gözlemlendi ve çalışmada 380 nm dalga boyunun kullanılmasına karar verildi.

Buna ilaveten 3 farklı konsantrasyonda hazırlanan potasyum bikromat çözeltileri Perkin-Elmer spektrofotometresinde 370-500nm'ler arasındaki sahada okunarak son kontrol yapıldı ve Şekil 9'da da görüldüğü gibi kromat çözeltileri arasındaki optik dansite farkının korunması ve mak-

simum optik dansitenin de 380nm de alınması yönünden Perkin-Elmer spektrofotometresinde de 380 nm dalga boyunun ideal olduğu gözlemlendi.

#### Testin stabilizasyonu için denemeler

Testte kullanılan madde konsantrasyonları değiştirilerek sayısız denemeler yapıldı. Bu denemelerde reagent blank tüplerinde kalan kromatin optik dansitesinin spektrofotometrede okuma sahasında kalabilmesi için çalışıldı. Bütün denemeler neticesinde gümüş nitrat ve potasyum bikromat çözeltilerinin, bahsedilmiş olan konsantrasyonlarının, bahsedilen miktarlarda kullanılmasıyla en ideal neticelerin alındığı bulundu.

Standartlarla yapılan denemelerde aynı standartın her seferinde farklı optik dansiteye sahip olarak okunması üzerine, bu farklılıkların düzenlenmesi amacıyla reaksiyon basamakları üzerinde incelemeler yapılmasına karar verildi. İlk denemelerde test tüplerine klor konulduktan hemen sonra kromat ilave edilmekte ve santrifüjü takiben okumalar yapılmaktaydı. Yapılan denemelerde, klor ilavesinden sonra 5 dakika kadar beklemenin, bahsedilen problemin ortadan kalkmasına yardımcı olduğu anlaşıldı ve 5 dakika beklemekle farklılıklar çok küçük düzeylere indi. Küçük farklılıkların manipulasyon hatalarından da ileri gelebileceği düşünülerek, test, 5 dakikalık bir bekleme süresi ile vesiyle uygulamaya alındı.

Materyal ve Metot bölümünde anlatılan şekilde farklı klor konsantrasyonları ve herbir konsantrasyondan farklı miktarlar kullanılmak üzere çok sayıda deneme yapıldı. Yapılan denemelerin tamamında da elde edilen standart eğri grafiklerinin, konsantrasyon artışı ile parabol şekline dönüştüğü % 500 mg'ı aşan konsantrasyonlarda bunun daha da belirginleştiği tespit edildi. Test denemeleri hem 1 cm ışık yoluna sahip küvetler kullanılarak schimadzu ve hemde 0.7 cm ışık yoluna sahip küvetler kullanılarak Perkin-Elmer spektrofotometrelerde yapıldı. 0.7 cm lik küvetlerin kullanıldığı Perkin-Elmer spektrofotometresinde elde edilen optik dansite rakamları daha küçük kaldığından okuma sınırlarının bu şekilde daha yükseleceği düşünüldü.

Ortam pH'sının kromat konsantrasyonu üzerine olan etkisi(Fisher ve Peters 1968, Fritz ve Schenk 1969) göz önüne alındığında çalışma ortamının sabit bir pH'da yapılabilmesi düşünüldü ve farklı pH'larda tampon çözeltiler hazırlanarak re-

aksiyon ortamı olarak bu tampon çözeltiler denendi. Mohr metodunda ideal pH'nın pH:10'dan daha düşük seviyelerde alkali olması (Fisher ve Peters 1968, Fritz ve Schenk 1969) bildirilmiş olduğundan bu pH'lara uygun olarak hazırlanan tampon çözeltiler kullanılarak yapılan denemelerde pH'nın dengelenebilmesi amacıyla kullanılan maddelerin reaksiyonu, özellikle kromatı çok etkilediği tespit edilerek (veriler çalışmaya alınmadı) tampon çözeltilerle bu testin yapılamayacağına karar verildi.

Kan serumunda yapılan denemelerde serumda bulunan madde/maddelerin kromatın rengi üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğu, okunan absorbans rakamlarını yükselttiği ve serumda normalin çok üzerinde klor konsantrasyonu hesaplanmasına neden olduğu gözlemlendi. İdrarda yapılan klor analizlerinde ise daha stabil sonuçlar elde edildi. İdrarın 1/4 ve 1/8 sulandırılması yapıldıktan sonra yapılan analizlerde elde edilen klor konsantrasyonlarının sulandırma oranları ile uyumlu olarak bulunduğu tespit edildi. İdrarla yapılan rekoveri testlerinin çoğunda da yüksek başarı oranı sağlandı.

Serum klor analizi denemelerinde reaksiyonu etkileyen faktör/faktörlerin devreye girerek sonucu değiştirmesinden dolayı, serum klor analizlerinin ayrı olarak çalışılmasına, sonuca etkili olan bu faktörlerin ekarte edilmesi amacıyla yeni çalışmalar yapılmasına karar verildi. Buna mukabil rekoveri testlerindeki başarı, standart eğri grafiklerinin istenilen niteliklerde bulunması ve idrardaki çalışmalardan düzgün neticeler alınmasından dolayı

metodun bu hali ile yayına verilmesine karar verilmiştir.

Sonuç olarak, bu spektrofotometrik metodun idrarda klor miktarı tayininde kullanılabileceğine karar verildi.

Muhtemelen gözden kaçmış olabilen hataların açığa çıkartılması ve metodun daha da geliştirilmesi açısından, yapılacak birçok değerlendirilmeye ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak metodun, konu ile ilgili diğer araştırmacılara ulaştırılması yönünden de yayınlanmasının faydalı olabileceği düşünülmüştür.

#### Kaynaklar

- BioClinica Lab.Mal. San.Tic.AŞ. Büyükdere cad. Samanyolu apt., 33/480220 Şişli İstanbul
- Chang,R.(1991),Chemistry,fourth edition, McGraw-Hill,Inc, New York
- Fischer,R.B.,Peters,O.G.(1968).Quantitative Chemical Analyses.WB. Saunders Company,London.
- Fritz,S.J.,Schenk,G.H.(1969).Quantitative Analytical Chemistry. Sec. ed., Allyn and Bacon Inc.,470, Atlantic Avenue,Boston USA.
- Kaneko,J.J.(1989).Clinical Biochemistry of Domestic Animals. fourth ed. Academic Press, New York.
- Sclavo Diagnostics. Bilim tıbbi ürünler Ltd Şti., Büyükdere cad. Gümülcineli apt, no:4, Şişli İstanbul
- Smith,E.L.,Hill,R.L.,Lehman,I.R.,Lefkowitz,R.J.,Handler, P.,White,A. (1986). Principles of Biochemistry, Mammalian Biochemistry. International edition, McGraw-Hill Book Company,London.
- Uyar,T.(1984). Temel Kimya. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.