

57553

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ MATERYALLERDE DİFERANSİYEL  
PULS POLAROGRAFİK YÖNTEMLE NİTRİT  
MİKTAR TAYİNİ

Kimyager Gülnur KESER

F.B.E. Kimya Anabilim Dalı Anorganik Kimya Programında  
hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Sezen İSLİMYELİ

İSTANBUL,1996

	Sayfa No
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>I</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>III</b>
<b>ÖZET</b>	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>V</b>
<b>1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BÖLÜM</b>	<b>3</b>
2.1. NİTRİT TAYİNİNİN ÖNEMİ	3
2.2. POLAROGRAFİ HAKKINDA GENEL BİLGİ	6
2.2.1. Giriş	6
2.2.2. Polarogram	7
2.2.3. Civa Damla Elektrod (DME)	10
2.2.4. Polarografik Kantitatif Analiz	12
2.2.5. Polarografik Kalitatif Analiz	13
2.2.6. Polarografide İstenmeyen Olaylar	14
2.2.6.1. Polarografik Maksimum ve Giderilmesi	14
2.2.6.2. Oksijenin Giderilmesi	15
2.2.6.3. Artık Akım	16
2.2.7. Yaygın Polarografik Teknikler	16
2.2.7.1. Puls ve Diferansiyel Puls Polarografisi	16
2.2.7.2. Alternatif Akım Polarografisi	20
2.2.7.3. Siklik Voltametri	23
2.2.7.4. Lineer Sweep Voltametri	25
2.3. POLAROGRAFİK NİTRİT TAYİN YÖNTEMLERİ	28
2.3.1. Katalitik Direkt Polarografik Yöntemler	28
2.3.2. Diğer Direkt Polarografik Yöntemler	31

2.3.3.	İndirekt Polarografik Yöntemler	32
2.3.3.1.	Diazolama-Kenetleme Üzerinden İndirekt Tayinler	32
2.3.3.2.	Metal Tuzu ve Tiyosiyanat Tuzu Eşliğinde Yapılan Tayinler	35
2.3.3.3.	Difenilnitrozoamin Üzerinden İndirekt Tayinler	39
2.3.3.4.	Diğer İndirekt Tayin Yöntemleri	42
3.	<b>DENEYSEL BÖLÜM</b>	45
3.1.	MADDELER VE ÇÖZÜCÜLER	45
3.2.	ÇÖZELTİLER	45
3.3.	GEREÇLER	46
3.4.	ÇALIŞMA YÖNTEMİ	46
3.4.1.	Diferansiyel Puls Polarografik Çalışma Koşulları	46
3.4.2.	Standart Çözeltiler ve Ölçü Eğrisi	47
3.4.3.	Tükürük Örneklerinin Çalışılması	48
4.	<b>SONUÇLAR</b>	49
4.1.	Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	49
4.2.	Tükürük Örnekleriyle Elde Edilen Sonuçlar	51
5.	<b>TARTIŞMA</b>	61
	<b>KAYNAKLAR</b>	63
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	

### TEŐEKKÖR

Bu tezin hazırlanması sırasında bana her zaman destek olan, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren değerli hocam Prof.Dr. Sezen İSLİMYELİ 'ne teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde maddi olanaklarıyla destek veren Y.T.Ü. Araştırma Fonu 'na (Proje No:93-A-01-02-02) teşekkür ederim.

Gölnur KESER

## ÖZET

Bu tezin ilk bölümünde nitrit iyonunun kaynakları ile insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri özetlendi ve polarografik yöntem hakkında genel bilgi verildi. Daha sonra direkt ve indirekt polarografik nitrit tayin yöntemlerinin bir dökümü yapıldı.

Çalışmanın deneysel bölümünde önce nitrit iyonunun perklorik asitli ortamda ve tiyosiyanat iyonunun katalizör etkisinde difenilamin ile oluşturduğu difenilnitrozoaminin polarografik olarak indirgenmesine dayanan diferansiyel puls polarografik yöntemin optimum koşulları incelendi. Buna göre 5 ml  $2.60 \times 10^{-3}$  M (% 40 'lık metanolde) difenilamin, 10 ml 0.1 M sodyum tiyosiyanat, 10 ml 0.4 M perklorik asit içeren karışım bidestile su ile 100 ml 'ye seyreltildi (belirteç çözeltisi). 1 µg/ml nitrit iyonu içeren sulu çözeltinin 1 ml 'si 25 ml 'lik bir balon jojeye aktarıldı ve belirteç çözeltisiyle hacmine tamamlandı. 40 ng/ml nitrit iyonu içeren bu çözeltiye mümkün olan en yüksek hassasiyette çalışılarak diferansiyel puls polarogramının optimum koşulları aşağıdaki şekilde belirlendi.

U başlangıç: -0.4 V,  $\Delta U$ : -0.5 V,  $t_{damla}$  : 0.8s, damla hızı: 2 mm/damla, hassasiyet:  $1.0 \times 10^{-9}$  A/mm, çalışma elektrodu: SMDE (Stasyoner civa damla elektrod), yardımcı elektrod: camlı karbon elektrod, referans elektrod: Ag/AgCl, KCl (3M) elektrod. Bu polarogram koşullarında nitrit iyonunun -0.56 V 'da maksimum diffüzyon akımı gösterdiği saptandı. Belirlenen koşullarda 0.5-2.5 µg/ml nitrit iyonu içeren çözeltilerin 1 ml 'si ile çalışılarak diferansiyel puls polarogramları elde edildi (n=5). -0.56 V 'daki maksimum diffüzyon akım değerlerinin ortalaması ( $\bar{I}_d$ ) ile son nitrit konsantrasyonları (0.02-0.1 µg/ml) arasında ölçü eğrisi hazırlandı. Regresyon analiziyle doğru denklemi  $\bar{I}_d = 445 c + 4.78$  ( $r = 0.9997$ ) olarak hesaplandı.

Diferansiyel puls polarografik yöntem beş adet tükürük örneğinde nitrit tayini için uygulandı. Matriks etkisini gidermek amacıyla tayin standart katma yöntemiyle yapıldı.

Yöntemin musluk suyu ve çeşitli sebzelerde (patates, havuç, pazı) nitrit tayini için de uygulanmasına çalışıldı. Ancak bu örneklerdeki nitrit miktarı çok düşük olduğu için (<20 ng/ml) elimizdeki polarograf ile sağlanan optimum koşullarda saptanamadı.

## ABSTRACT

In the first part of this thesis; the sources of nitrite ion and the harmful effects of it on human health were summarized and a general knowledge about polarographic method was given. Then direct and indirect polarographic nitrite determination methods were reviewed.

In the experimental section of the work; optimum conditions of the differential pulse polarographic method based on the polarographic reduction of diphenylnitrosamine which was occurred by nitrite ion and diphenylamine in perchloric acidic medium and thiocyanate ion as catalyst, were investigated. Accordingly; the mixture of 5 ml of  $2.60 \times 10^{-3}$  M diphenylamine (in 40% MeOH), 10 ml of 0.1 M sodium thiocyanate, and 10 ml of 0.4 M perchloric acid was diluted to 100 ml with bidistilled water (reagent solution). One ml of the aqueous solution containing 1  $\mu\text{g/ml}$  nitrite ion was transferred into a 25 ml volumetric flask and diluted to the volume with reagent solution. Optimum conditions of the differential pulse polarogram was determined by working with this solution, containing 40 ng/ml of nitrite ion, at the highest possible sensitivity, as follows:  $U_{\text{start}}$ : -0.4 V,  $\Delta U$ : -0.5 V,  $t_{\text{drop}}$ : 0.8s,  $mmt_{\text{drop}}$ : 2 mm/drop, sensitivity:  $1 \times 10^{-9}$  A/mm, working electrode: SMDE (stationary mercury dropping electrode), auxillary electrode: glassy carbon electrode, reference electrode: Ag/AgCl, KCl (3M) electrode. At these polarogram conditions, nitrite ion gave a maximum diffusion current at -0.56 V. The differential pulse polarograms were obtained by working at these conditions with 1 ml portions of the solutions containing 0.5-2.5  $\mu\text{g/ml}$  nitrite ion ( $n=5$ ). A calibration graph was plotted between the mean of maximum diffusion current values determined at -0.56 V ( $\bar{I}_d$ ) and the last nitrite concentrations (0.02-0.1  $\mu\text{g/ml}$ ). The linear equation of the calibration graph was calculated by regression analysis as  $\bar{I}_d = 445 c + 4.78$  ( $r = 0.9997$ ).

The differential pulse polarographic method was applied for nitrite determination in five saliva samples. The standard addition method was applied to eliminate matrix effect.

The method was tried to apply for nitrite determination in tap water and vegetable samples (patatoes, carrot, chard) but the nitrite content of these samples were too little to determine at our optimum polarographic conditions.

## 1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Toprakta ve kullanılan suni gübreler aracılığı ile özellikle toprakla yakın temastaki sebzelere ve içme suyu kaynaklarına geçen nitrat iyonu bakteriyolojik olarak nitrite dönüştüğü zaman insan sağlığı yönünden zararlı etkiler oluşturmaktadır.

Nitrat ve nitrit iyonu belli oranlarda sucuk ve salam gibi işlenmiş et ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanıldıklarında bu iyonların tayini önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında nitrit iyonunun yüksek doğruluk ve duyarlılıkla tayin edilebildiği bir diferansiyel puls polarografik yöntemin çeşitli materyalde nitrit tayini için uygulanması amaçlanmıştır.

Nitrit tayini için uygulanan diferansiyel puls polarografik yöntem; sulu çözeltide, düşük pH 'da, nitrit iyonunun difenilamin ile tiyosiyanat iyonunun katalizör-

lügünde difenilnitrozoamin oluşturmasına ve bu ürünün  $-0.55$  V ile  $-0.64$  V yarı dalga potansiyelinde verdiği polarogramın incelenmesine dayanmaktadır.



## 2. GENEL BÖLÜM

### 2.1. NİTRİT TAYİNİNİN ÖNEMİ

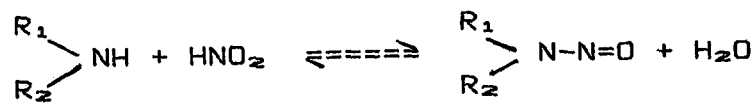
Doğada özellikle bitkilerde ve su kaynaklarında bulunan nitrat iyonu fazla miktarda alındığında ve bakteriyolojik ortamda nitrit iyonuna dönüştüğü durumlarda toksik etki göstermektedir.

Bir çok yiyecek ve işlenmiş et ürünlerinde katkı maddesi olarak kullanılan nitrat iyonunun nitrit iyonunu oluşturması insan sağlığı açısından zararlı etkiler oluşturur (Wolff and Wasserman, 1972). Yetişkinlerde mide asitliği yüksek miktarda bulunduğundan nitrit iyonunu meydana getirecek koşullar oluşmamaktadır. Fakat çocuklarda mide asitliğinin daha az olması nedeniyle nitrat iyonu nitrite dönüşebilmekte ve buna bağlı olarak toksik etki oluşmaktadır. Örneğin: piştikten sonra oda sıcaklığında beklemiş olan ıspanağın çocuklarda zehirlenmelere sebep olduğu bilinmektedir. Bu sonuç

çocukların daha az asidik midelerinde üreyen bakteriler tarafından nitrit iyonunun oluşmasına dayandırılmıştır. Bu nedenle günlük nitrit alımının kilogram vücut ağırlığı başına 0.4 mg 'la sınırlandırılması tavsiye edilmiştir (Wolff and Wasserman, 1972).

Nitrit iyonunun kanıtlanmış toksik etkisi iki nedene bağlı olarak oluşmaktadır. Birinci nedene göre nitrit iyonu kan pigmenti olan hemoglobin ile methemoglobin oluşturur. Demir(II) içeren solunum pigmenti olan hemoglobin oksijeni dokulara; gevşek yapılı bir kompleks olan oksihemoglobin yoluyla taşımaktadır. Demir(II) iyonu, demir(III) 'e oksitlendikten sonra oksijen taşıma yeteneğini kaybeder ve kahverengi methemoglobin maddesini oluşturur. Böylece kanda nitrit iyonunun bulunması methemoglobin oluşmasına neden olmaktadır. Kandaki hemoglobinin methemoglobine dönüşme oranı % 70 'in altında olduğunda bu reaksiyon reversibl olduğu halde, daha yüksek konsantrasyon düzeylerinde boğulmaya neden olabilir (Wolff and Wasserman, 1972).

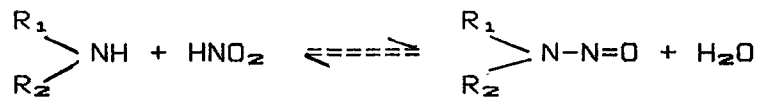
Nitrit iyonunun ikinci toksik etkisi insan vücudunda bulunan aminlerle kanserojen etki yapabilen nitrozoaminleri oluşturmasıyla ortaya çıkmaktadır(Wolff and Wasserman, 1972).



çocukların daha az asidik midelerinde üreyen bakteriler tarafından nitrit iyonunun oluşmasına dayandırılmıştır. Bu nedenle günlük nitrit alımının kilogram vücut ağırlığı başına 0.4 mg 'la sınırlandırılması tavsiye edilmiştir.

Nitrit iyonunun kanıtlanmış toksik etkisi iki nedene bağlı olarak oluşmaktadır. Birinci nedene göre nitrit iyonu kan pigmenti olan hemoglobin ile methemoglobin oluşturur. Demir(II) içeren solunum pigmenti olan hemoglobin oksijeni dokulara; gevşek yapılı bir kompleks olan oksihemoglobin yoluyla taşımaktadır. Demir(II) iyonu, demir(III) 'e oksitlendikten sonra oksijen taşıma yeteneğini kaybeder ve kahverengi methemoglobin maddesini oluşturur. Böylece kanda nitrit iyonunun bulunması methemoglobin oluşmasına neden olmaktadır. Methemoglobin konsantrasyonu kanda % 70 'in altında bulunduğu halde, bu reaksiyon reversibl olduğu halde, daha yüksek konsantrasyon düzeylerinde boğulmaya neden olabilir.

Nitrit iyonunun ikinci toksik etkisi insan vücudunda bulunan aminlerle kanserojen etki yapabilen nitrozoaminleri oluşturmasıyla ortaya çıkmaktadır(Wolff and Wasserman, 1972).



Endüstriyel alanda ara ürün olarak kullanılan nitrozoaminlerin bu etkilerinden dolayı deney hayvanları üzerinde bir çok denemeler yapılmış ve çeşitli yapıdaki nitrozoaminlerin % 75 'inin hayvanlar üzerinde kanserojen etki gösterdiği ispatlanmıştır. Bu etki insanlarda tek ve kesin bir kanser nedeni olarak genellendirilmişse de, nitrozoaminleri oluşturan nitrat ve nitrit iyonlarının diyetlerde azaltılması gerektiği belirtilmiştir (Wolff and Wasserman, 1972).

Yapılan araştırmalar nitrozolanmanın sadece sekonder aminlerle değil aynı zamanda yiyeceklerde ve ilaçlarda bulunan tersiyer aminler ve kuaterner amonyum bileşiklerinden de oluştuğunu göstermiştir (Fiddler and Pensabene, 1972). Nitrozolama reaksiyonu kimyasal yolla veya mikroorganizmaların metabolik aktivitesi sonucu oluşabilir. Nitrozolama; madde konsantrasyonu, aminin bazikliği, pH ve bazı anorganik iyonların varlığı gibi faktörlerle değişim gösterebilir. Örneğin: insan tükürüğünde 12-33 mg/100ml düzeyinde bulunan tiyosiyanat iyonu nitrozolama hızını artırabilmektedir.

Sindirim sisteminde hazmedilen nitrit ve sekonder aminler nitrozoamin oluşmasına neden olabilirler. Bu konuda yapılan çalışmalarda; ince barsak mikroorganizmalarının üretildiği ortamlarda amin ve nitritten nitrozoamin oluştuğu görülmüştür (Hawksworth and Hill, 1971).

Nitrozoaminlerin oluşumuna neden olan diğer kaynaklar; çevresel faktörler, yüksek miktarda amin içeren tütün dumanı ve ayrıca büyük dozlarda ya da uzun zaman süreçlerinde alınan sekonder amin grubu içeren ilaçlardır (Serfontein and Smith, 1967).

Bütün bu nedenlerden dolayı nitrit iyonlarının çeşitli materyallerde tayini önem taşımakta ve bu konuda bilim çevrelerinin çok sayıda araştırma yapması gerekmektedir.

## 2.2. POLAROGRAFİ HAKKINDA GENEL BİLGİ

### 2.2.1. GİRİŞ

Bu bölümü oluşturan polarografik tayin yöntemine ait bilgiler üç ayrı kaynak kullanılarak hazırlanmıştır (Aycan, 1994; Gündüz, 1988; Scoog and Leory, 1992).

Önemli voltametrik yöntemlerden biri olan polarografi elektroaktif maddelerin, polarlanabilen elektrodlarla çizilebilen akım-gerilim eğrilerini inceleyen elektrokimyasal bir analiz yöntemidir. Polarografik yöntem, bir referans elektrod ile bir mikroeletrodun uygun bir elektrolit içinde oluşturduğu redoks reaksiyonlarına dayanır. Bu yöntemde iki elektrod arasına değişen bir voltaj uygulanır ve buna bağlı olarak değişen akım şiddeti belirlenir.

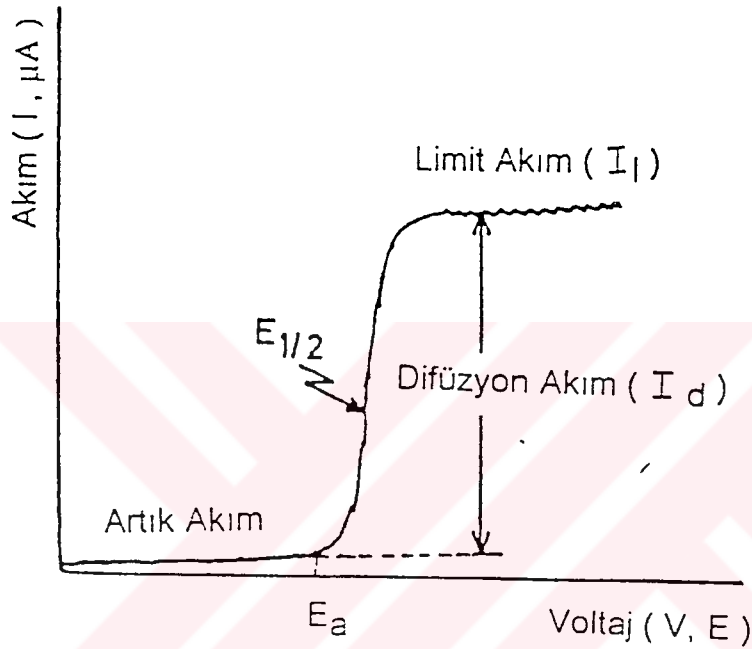
Polarografide çalışma elektrodu, polarize olabilen civa damla elektrodudur. Civa damla elektrod genellikle katot olarak görev yapar. Katodun polarize olması üzerindeki potansiyelin yükseltilmesine karşılık akım şiddetinde bir değişiklik olmasıdır. Anot ise referans elektrod olarak kullanılan ya bir kalomel elektrod veya geniş yüzeyli civa haznesidir. Her iki anod da polarize olmamaktadır. Direnci azaltmak için kullanılan yardımcı elektrod genellikle camsı karbon elektrod veya platin teldir.

### 2.2.2. POLAROGRAM

Polarlanabilen bir elektrod ile polarlanmayan bir elektrod arasına gittikçe artan küçük gerilimler uygulanıp, elektrodlar üzerinden geçen akım kaydedilerek elde edilen akım-potansiyel eğrisine polarogram denir (Şekil 2.1.).

Polarografik analiz çoğunlukla katot olarak kullanılan, analiz çözeltisine batırılmış olan civa damla elektrodunda gerçekleşir. Potansiyel daha çok doğru akım (D.C.) olarak verilir. Bundan başka alternatif akım (A.C.), değişik pulslar ve kare dalgalar kullanılabilir. Polarogramdaki artık akım, ayrışma potansiyeline devreden geçen sabit akım, limit akım ise iyonların elektroda tamamen diffüzlendiği akımdır. Artık akım ile limit akım arasındaki akım farkı diffüzyon akımı ( $I_d$ ) olarak bilinmektedir. Bu akım S eğrisindeki orta

noktasına karşı gelen potansiyel miktarına yarı dalga potansiyeli ( $E_{1/2}$ ) denilmektedir.



Şekil 2.1. Doğru Akım Polarogramı

Bir polarogramın iki karakteristik özelliği vardır. Birisi; akımın limit akımın yarısına eşit olduğu andaki potansiyel olan yarı dalga potansiyelidir ( $E_{1/2}$ ). Her elektroaktif maddenin belirli koşullarda karakteristik yarı dalga potansiyeli vardır ve bu maddeler  $E_{1/2}$  değerleriyle karakterize edilirler. Örneğin 0.1 M potasyum klorür içinde Cd(II) 'nin yarı dalga potansiyeli bütün konsantrasyonlarda -0.60 V dur. İkinci özellik ise polarografik dalganın

yüksekliği ya da limit akımın büyüklüğüdür. Genellikle limit akım elektroaktif maddenin derişimi ile orantılıdır.

Polarografide destek elektroliti değişince yarı dalga potansiyelide değişmektedir. Çözeltiye, incelenen madde konsantrasyonunun yüz katı derişiklikte ilave edilen destek elektrolitinin görevi, akımın sadece difüzyon ile geçmesini sağlayıp elektrod ile zıt yüklü iyonlar arasındaki elektriksel çekimden ileri gelen migrasyon akımını yok etmektir. Destek elektrolitinin katılımı yalnız migrasyon akımının etkisini gidermez, aynı zamanda çözeltideki IR (ohmik) düşmeyide en aza indirger. Destek elektroliti olarak sulu çözeltilerdeki polarografik çalışmalarda; sodyum nitrat, potasyum klorür, potasyum nitrat, sodyum perklorat gibi tuzların çözeltileri, sudan başka çözücülerin kullanıldığı çalışmalarda ise lityum perklorat, tetraalkil amonyum tuzları kullanılmaktadır. Tampon çözeltiler yada asit çözeltileri ile çalışıldığında destek elektroliti kullanmaya gerek kalmamaktadır.

Polarogramda polarografik dalga yüksekliği olan limit akım; difüzyon akımı, migrasyon akımı ve konveksiyon akımlarının toplamı kadardır. Konveksiyon akımı çözeltinin fiziksel özelliklerinden kaynaklanan bir akım olup, çözelti karıştırılmadığı takdirde etkisi giderilmektedir. Migrasyon akımı ise destek elektrolitin ilavesi ile yok edildiğinden,

limit akımın büyüklüğü difüzyon akımına eşit olmaktadır. Migrasyon akımının etkisi giderilmediği takdirde elektrod reaksiyonlarının incelenmesinde karmaşıklıklara neden olmaktadır.

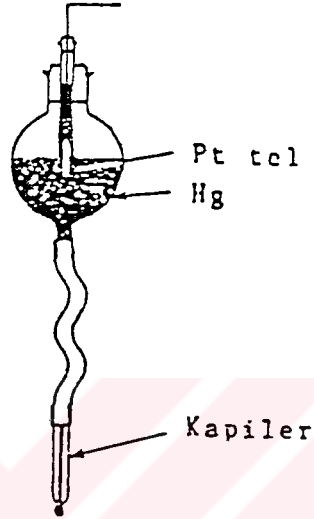
### 2.2.3. Civa Damla Elektrod (DME)

Klasik bir civa damla elektrod; küçük polietilen bir tüp içindeki cam ile temasta olan iç çapı 0.05-0.10 mm 'lik bir cam kapilerdir. Kapiler bir plastik boru ile içinde civa bulunan bir kaba bağlanmıştır (Şekil 2.2.). Bu kabın yüksekliği değiştirilebilir. Böylece, civa basıncı ve civa damla elektrodun damla ömrü kabın yukarı aşağı hareketi ile ayarlanabilir.

Elektroanalitik reaksiyonlar küçük civa damlacıkları üzerinde oluşur ve polarografik çalışmalarda damlayan civa bir indikatör elektrod olarak görev yapar ve tekrarlanabilir sonuçlar verir.

Civa kolonun yüksekliği, cam tüpteki civanın seviyesi ile kapilerin ucundan ölçülür. Cam tüp üzerinde farklı uzunlukları işaretlemek kolaylık sağlar. Böylece civa kolonu istenilen yükseklikte tutulabilir. Kullanılmadığında dereceli kap en düşük durumda ve kapiler destile suya daldırılmış olarak bekletilir. Deney sırasında kapiler dik durumda olmalı ve çözeltiliye en az 1 cm 'lik kısmı daldırılmalıdır. Kapiler

polarografi kabının dibine yada çeperlerine değmemeli ve çözeltide süspansiyon halindeki maddelere ve kirliliklere karşı korunmalıdır.



Şekil 2.2. Civa Damla Elektrod (DME)

Polarografide kullanılan civa damla elektrodun üstünlükleri şunlardır;

a) Saf civanın düzenli akışı, elektrokimyasal prosesin daima taze yüzeyde meydana gelmesini sağlar. Böylece genel olarak tekrarlanabilir sonuçlar elde edilir. Yüzeyin sürekli yenilenmesi, akımın elektroliz süresinden bağımsız olmasını sağlar.

b) Civanın yaklaşık 1 V olan yüksek hidrojen aşırı gerilimi hidrojen çıkışını engelleyici etkisi olmadan negatif potansiyellere ulaşmaya olanak sağlar.

c) Bir soy metal olan civa yüzeyi sürekli olarak yenilenir. Bu sebepten pasifleşme ve yüzey zehirlenmesi meydana gelmez.

#### 2.2.4. Polarografik Kantitatif Analiz

Bir çalışma elektrodu, referans elektrod ve yardımcı elektroddan oluşan üçlü elektrod sistemiyle bir elektrolitin elektrolizinde bir limit akıma varılması, kantitatif analizin temelini oluşturur. Polarografik kantitatif analiz yönteminin esası difüzyon akımının ( $I_d$ ), iyonun konsantrasyonu ( $c$ ) ile orantılı olmasına dayanır. Bu ifade ilkoviç denklemi olarak

$$I_d = 607 \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6} \cdot c$$

şeklinde belirtilir. Bütün sabit değerlerin k ilkoviç sabiti olarak birarada toplanması ile denklem ;

$$I_d = k \cdot c$$

şeklinde gösterilir.

ilkoviç denkleminde;

$I_d$  : Difüzyon akımı ( $\mu A$ )

$n$  : Alınıp verilen elektron sayısı

$D$  : Difüzyon katsayısı ( $cm^2/s$ )

$m$  : Birim zamanda akan civa kütlesi ( $mg/s$ )

$t$  : Bir damlanın kopma süresi (s)

$c$  : İndirgenen maddenin konsantrasyonu (mM)

ilkoviç eşitliğinde görüldüğü gibi difüzyon akımı elektroaktif maddenin konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğundan bu bağıntı kantitatif polarografinin temelini oluşturur.

### 2.2.5. Polarografik Kalitatif Analiz

Polarografik kalitatif analizin esası yarı dalga potansiyeline dayanmaktadır. Polarogram üzerinde herhangi bir noktadaki potansiyel Nerst eşitliğinden çıkarılmıştır. Eşitlik şu şekilde gösterilir:

$$E = E_{1/2} + \frac{R.T}{n.F} \ln \frac{I_d - I}{I}$$

Yarı dalga potansiyeli ile akım şiddeti arasındaki bağıntıyı gösteren bu eşitliğe polarografik dalga denklemi denir. Bu denklem göre yarı dalga potansiyelinin çözeltideki aktif ürün konsantrasyonuna bağlı olmadığı görülmektedir.

Her elektroaktif maddenin belirli koşullarda kendine özgü bir yarı dalga potansiyeli olduğundan yarı dalga potansiyelinin bilinmesi maddenin kalitatif tayinine yarar.

## 2.2.6. Polarografide İstenmeyen Olaylar

### 2.2.6.1. Polarografik Maksimum ve Giderilmesi

İdeal bir polarografik dalgada akım-voltaj eğrisi S şeklinde olup yarı dalga potansiyeline göre simetriktir. Ancak polarografik dalga her zaman S şeklinde olmayıp limit akımın başlangıcında bir maksimum göstermektedir. Bunlar daima aynı yerde görülürler ve limit akımın tayininde güçlük çıkartırlar.

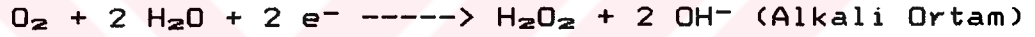
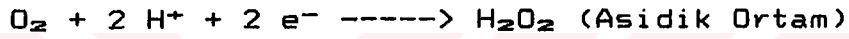
Polarografik maksimumların nedeni iki görüşe dayandırılmaktadır. İlk görüşe göre maksimumlar indirgenen iyonların civa damlası tarafından absorplanmasından ileri gelir. Böylece damlanın konsantrasyonu artmakta ve bu sebepten daha fazla bir difüzyon akımı meydana gelmektedir. İkinci görüşe göre polarografik maksimumlar civa damlası civarında çözeltinin hızlı hareketinden ileri gelmektedir.

Polarografik maksimumu gidermek için ortama; metil kırmızısı, fuksin, jelatin,  $\alpha$ -naftol gibi yüzey aktif maddeler katılır. Maksimum yok edici değişik konsantrasyonlarda ilave edilerek difüzyon akımı yüksekliğinin değişip değişmediği kontrol edilir.

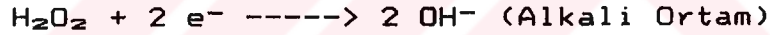
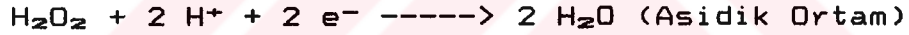
### 2.2.6.2. Oksijenin İndirgenmesi

Tüm çözeltiler kapatılmadıkları sürece atmosferik oksijene açıktırlar. Bu yüzden suda hazırlanan çözeltiler oda sıcaklığında yaklaşık  $10^{-3}$  M çözülmüş oksijen içermektedir. Çözülmüş bu oksijen civa damla elektrodunda kolayca indirgenir. Polarografik indirgenme iki basamakta olmaktadır.

Birinci Basamak:



İkinci Basamak:



Oksijenin iki polarografik dalga vermesi değişik çözücülerdeki ya da gaz karışımlarındaki oksijenin belirlenmesini sağlar, fakat söz konusu dalgalar incelenen maddenin çalışma aralığında bulunduğu polarografik olarak analiz edilecek maddeleri interfere eder. Bu yüzden çözeltinin oksijeninin giderilmesi gerekir. Bunun için ya çözeltiden inert bir gaz geçirilir ya da kimyasal olarak çözeltiye sodyum bisülfid gibi bir indirgen ajan katılır. Asidik ortamda sülfid indirgendiğinden bu amaçla kullanılmaz. Saf azot ve hidrojen çözeltiden oksijenin giderilmesi için

kullanılan en yaygın gazlardır. Ayrıca helyum, argon, metan ve karbondioksit gibi gazlarda kullanılabilir. Karbondioksit gazı sadece asidik ortamda kullanılmaktadır. Çünkü, alkali koşullarda karbonatlar oluşmaktadır.

### 2.2.6.3. Artık Akım

Bu akım yöntemin duyarlılığını sınırladığı için duyarlılık artırılmak istendiği zaman artık akımın en aza indirilmesi gerekmektedir. Bu işlem iki şekilde yapılabilir:

- 1- Destek elektrolit ve civa yeterince saflaştırılarak artık akım azaltılmaya çalışılır.
- 2- Çözeltideki çözünmüş oksijenin uzaklaştırılması sağlanır.

### 2.2.7. Yaygın Polarografik Teknikler

Doğru akım polarografiden sonra en yaygın olarak kullanılan teknikler: alternatif akım(AC), puls(P), diferansiyel puls(DP) polarografileri, siklik voltametri(CV) ve lineer sweep voltametri(LSV) teknikleridir.

#### 2.2.7.1. Puls ve Diferansiyel Puls Polarografisi

İdeal koşullar altında, klasik polarografi  $10^{-2}$ - $10^{-3}$  M

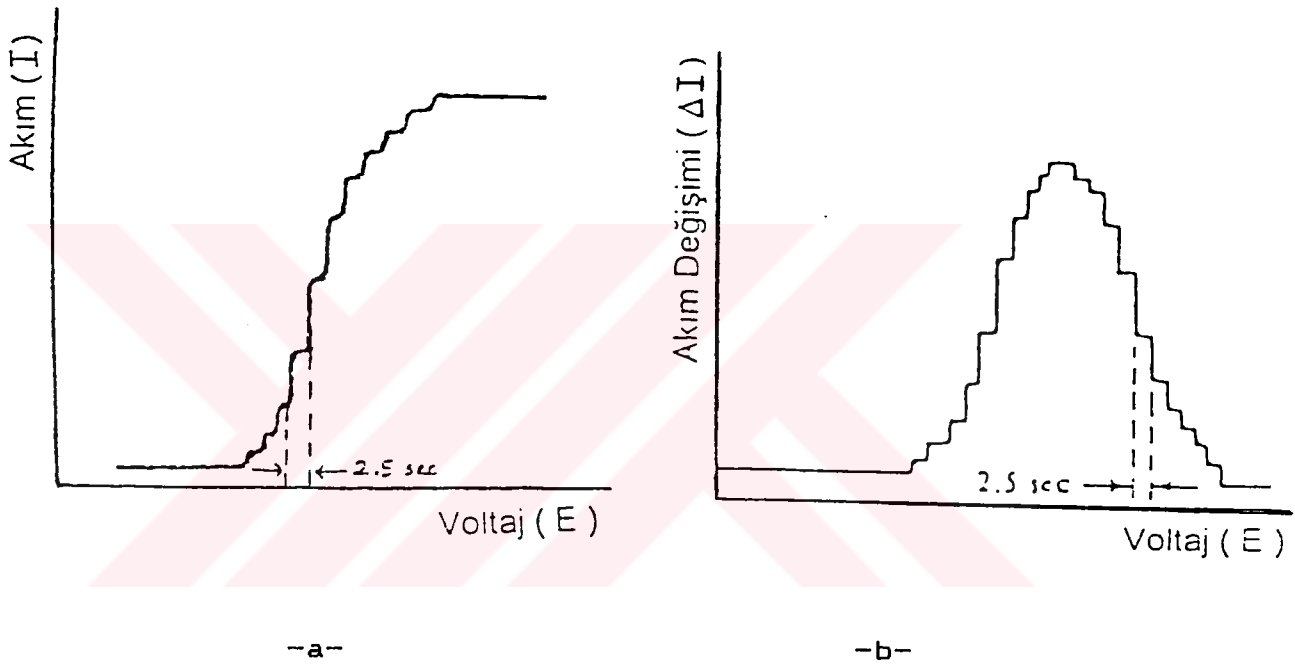
konsantrasyon aralığında kullanılır. Bu konsantrasyon aralığının kullanımına neden olan sebep; daha küçük konsantrasyonlarda, elektrodadaki elektriksel çift tabakanın yüklenmesinden oluşan kapasitif akımın (yük akımı), faradik (elektroliz) akıma göre oldukça büyük olmasındandır. Kapasitif akımın bir kısmını gidermek amacıyla puls ve diferansiyel puls teknikleri geliştirilmiştir.

Puls polarografisi tekniğinde; damla ömrünün ilk kısmındaki yük akımı değişmelerini önlemek için damla ömrünün son kısmında tek bir dikdörtgen voltaj pulsü elektroda gönderilir. Akım çok kısa bir sürede ölçüldükten sonra voltaj aniden değişmekte ve böylece yük akımı akımın ölçüldüğü andaki faradik akımdan daha az olmaktadır.

Puls polarografi tekniği; voltaj pulsunun artan genliğinin kullanıldığı puls polarografisi ve yavaşça artan voltaj üzerine bindirilmiş, sabit genlikli voltaj pulsunun kullanıldığı diferansiyel puls polarografisi olmak üzere iki farklı şekilde uygulanabilir.

Puls polarografide bir civa damlasına kapilerden düşmeden yaklaşık 57 ms önce bir puls potansiyeli uygulanır. Kapasitif akım pulsun ilk 40 ms 'i sırasında hemen hemen sıfıra üstel olarak azalır ve 17 ms sırasında kalan Faradik akım ölçülür. Uygulanan voltaj pulslarının genliği zamanla

artar ve akımdaki değişiklik voltaj değişikliğine karşı grafiğe geçirildiğinde doğru akım polarogramına benzer S şeklinde eğri elde edilir (Şekil 2.3.a). Bu S eğrisi damla ömrünü gösteren basamaklar şeklindedir.



Şekil 2.3. Puls (a) ve Diferansiyel Puls (b)  
Polarogramları

Akım ölçümleri, elektrod alanının maksimum olduğu damla ömrü sonunda yapıldığından yüksek hassasiyette sonuç alınır. Puls polarografi klasik doğru akım polarografiden altı, yedi kez daha iyi sonuç verir. Puls tekniği civa damla elektrod yerine katı elektrodlarla uygulanırsa puls voltametri adını alır.

Diferansiyel puls polarografide puls polarografiden farklı olarak kullanılan pulsün genliği sabittir (genellikle 50-100 mV) ve yavaşça doğrusal olarak artan bir voltaj üzerine bindirilmiştir. Diferansiyel puls polarografide akım, pulsün uygulanmasından 17 ms önce ve pulsün uygulandığı, kapasitif akımın çok az olduğu son 17 ms 'lik sürede ölçülür. Polarogram uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak iki akım arasındaki farkın grafiğidir. Bu nedenle akım-voltaj eğrisi S şeklinde olmayıp pik şeklinde oluşur (Şekil 2.3.b).

Diferansiyel puls polarogramının şekli klasik programın birinci türevine benzer. Polarografik pikin yüksekliği, reversibl sistemler için konsantrasyonla orantılıdır.

$$I_p = \frac{n.F.A.D^{1/2}.c[\exp(n.F.\Delta E/2R.T)-1]}{\pi^{1/2}.t^{1/2}[\exp(n.F.\Delta E/2R.T)+1]}$$

Bu eşitlikte  $\Delta E$ , katodik bir puls için pozitif, anodik bir puls için negatif olarak dikkate alınır. Kantitatif analiz kalibrasyon eğrisi yada standart katma teknikleri kullanılarak yapılır. Pulsün genliği artırıldıkça daha düşük konsantrasyonlar saptanabilir. Fakat yanyana bulunan piklerin ayrılması zorlaşır. Polarogramda tek bir pik varsa ya da birden fazla pik birbirinden yeterli derecede uzak ise maksimum hassasiyet elde etmek için potansiyel pulsü 50-100 mV olabilir. Eğer polarogramda birbirine yakın iki ya da daha fazla

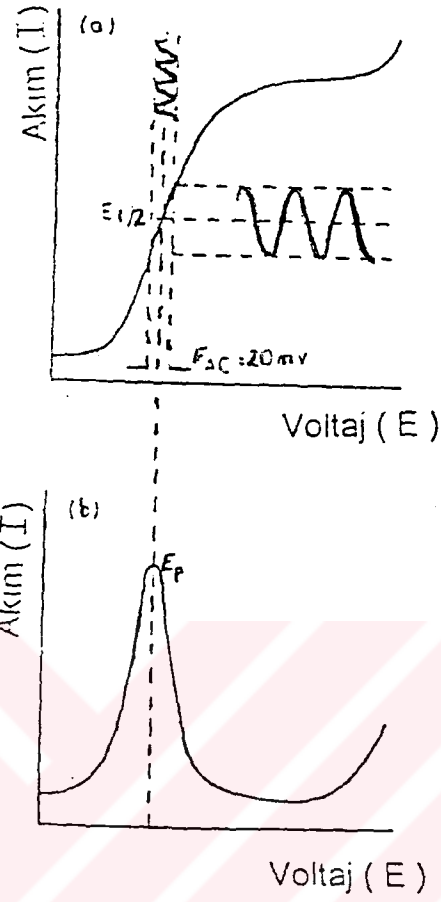
pik varsa, iyi sonuç alabilmek için puls genliği 5-10 mV olmalıdır.

Puls polarografisinin tayin sınırı  $10^{-7}$  M, diferansiyel puls polarografisinin ise  $10^{-9}$  M düzeyindedir.

#### 2.2.7.2. Alternatif Akım Polarografisi

Alternatif akım polarografide indikatör elektroda hem direkt hem de alternatif voltaj uygulanır. Genellikle uygulanan alternatif potansiyelin genliği 5-50 mV, frekansı 10-100 Hz değerleri arasında değişir.

Uygulanan alternatif potansiyel selden alternatif akım geçmesine neden olur. Akımın alternatif bileşeni ölçülür ve doğru akım potansiyelinin bir fonksiyonu olarak alternatif akım polarogram elde edilir. Oluşan alternatif akım polarogramı, doğru akım potansiyeline karşı temel harmonik alternatif akımın bir grafiğidir. Bu grafik reversibl bir dalga için doğru akım polarogramının artan kısmına uygun pik şeklinde bir eğridir. Reversibl bir redoks reaksiyonu için pik simetriktir (şekil 2.4.). Pik yüksekliği ( $I_p$ ) elektroaktif türlerin konsantrasyonu ve frekansın karekoku ile orantılıdır.



Şekil 2.4. Alternatif Akım Polarogramı ve Doğru Akım Polarogramı ile ilişkisi

$$i_p = \frac{2.5 n^2 F^2 D^{1/2} \Delta E W^{1/2} c}{4 R T}$$

Bu eşitlikte:

$\Delta E$  : Alternatif akım potansiyeli (V)

$W$  : Alternatif potansiyelin frekansı (Hz)

$D$  : Difüzyon katsayısı ( $\text{cm}^2\text{s}^{-1}$ )

$c$  : Konsantrasyon (mM)

$i_p$ : Pik akımı ( $\mu\text{A}$ )

Alternatif akım polarografiden elde edilen akım, iki bileşen içerir. Bunlardan biri: elektrokimyasal reaksiyonun neden olduğu faradik alternatif akımı ( $i_F$ ), diğeri ise elektriksel çift tabakadan oluşan kapasitif alternatif akımıdır ( $i_c$ ).  $i_F$  frekansın karekökü ile orantılı olmasına karşın  $i_c$  frekans ile orantılıdır. Böylece artan frekans ile  $i_F$  'nin  $i_c$  'ye oranı azalacağından, kantitatif çalışmalarda; polarogramlar düşük frekanslarda (10-100 kHz) ölçülmelidir.

Pik potansiyeli  $E_p$ , doğru akım polarogramının reversibl yarı dalga potansiyeli  $E_{1/2}$  'ye eşit alınabilir.

Reversibl bir alternatif akım dalgasının şekli ve pik potansiyeli; damla ömrü ile elektroaktif maddenin konsantrasyonundan bağımsızdır. Yarı reversibl sistemlerde; pik potansiyeli alternatif akım frekansı ile değişir, ancak daha düşük frekanslarda yarı dalga potansiyeline yaklaşır. Bu sistemlerde hassasiyet, reversibl bir işleminkinden daha düşük olduğundan bu dalgalar analitik amaçlar için yararlı değildir.

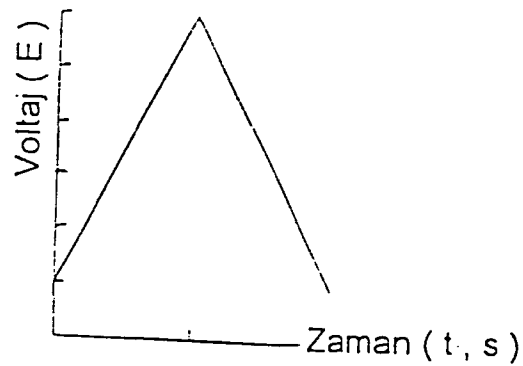
irreversibl olaylara ilişkin dalgalar geniştir ve bir irreversibl dalganın pik potansiyeli doğru akım yarı dalga potansiyelinden daha negatif değere kayar.

Alternatif akım (AC) polarografisinin hassasiyeti  $10^{-6}$  M ayırma gücü ise 20000:1 dir.

### 2.2.7.3. Siklik Voltametri

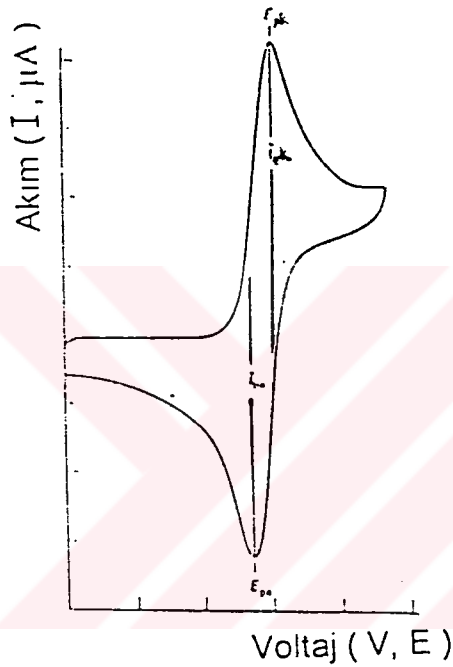
Yaygın polarografik tekniklerden biri olan ve hızlı lineer sweep voltametri olarak da bilinen siklik voltametri, çok yönlü ve yararlı bir teknik olup redoks reaksiyonlarının mekanizmasını incelemeye ideal bir yöntemdir.

Siklik voltametrde, karıştırılmayan bir çözeltideki küçük, durgun bir elektroda üçgen dalga şeklinde bir potansiyel uygulanır (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Siklik Voltametrde Uyarma Sinyali

Bir siklik voltamogramda önemli parametreler: Katodik ve anodik pik potansiyeli ( $E_{pk}$ ,  $E_{pa}$ ), katodik ve anodik pik yüksekliğidir ( $i_{pk}$ ,  $i_{pa}$ ) (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Siklik Voltamogramı

Reversibl bir elektrod reaksiyonu için anodik ve katodik pik akımları yaklaşık olarak eşittir ve pik potansiyelleri arasındaki fark  $0.059/n$  mV dur (25 °C için).

Potansiyel tarama hızı (V) artırıldığında katodik ve anodik akımlar  $V^{1/2}$  ile doğru orantılı olarak artar. Reversibl bir sistemde  $V^{1/2}$  'ye karşı anodik pik yüksekliği

( $i_{pa}$ ) yada katodik pik yüksekliği ( $i_{pk}$ ) değişimi doğrusaldır. Kinetik karmaşıklıklar olmadığı zaman reversibl bir sistem için anodik pik yüksekliğinin katodik pik yüksekliğine oranı bire eşittir ve tarama hızından bağımsızdır.

Reversibl olaylarda; anodik ve katodik pik akımları aynı büyüklükte olup, pikler arasındaki potansiyel farkı

$$E_{pa} - E_{pk} = \frac{2.22 RT}{nF} = \frac{5.70}{n} \text{ (mV)}$$

eşitliği ile bulunur.

irreversibl reaksiyonlarda anodik ve katodik pik akımları ayrılmaya başlar ve oksidasyon çok olduğu zaman pik oluşmaz.

Sıklık voltametri, bileşiklerin redoks davranışını belirlemede, reaksiyon kinetiklerini ve rakip reaksiyonları açıklamada kullanılır. Pik potansiyelleri yeterince yakın olan maddeler bu yöntem ile saptanabilir. En çok kullanılan elektrodlar platin, karbon, altın ve civadır.

#### 2.2.7.4. Lineer Sweep Voltametri (LSV)

Bu yöntemde civa damla elektrodu ile potansiyostatik koşullar altında çalışma yerine sabit bir elektrod yüzeyinde

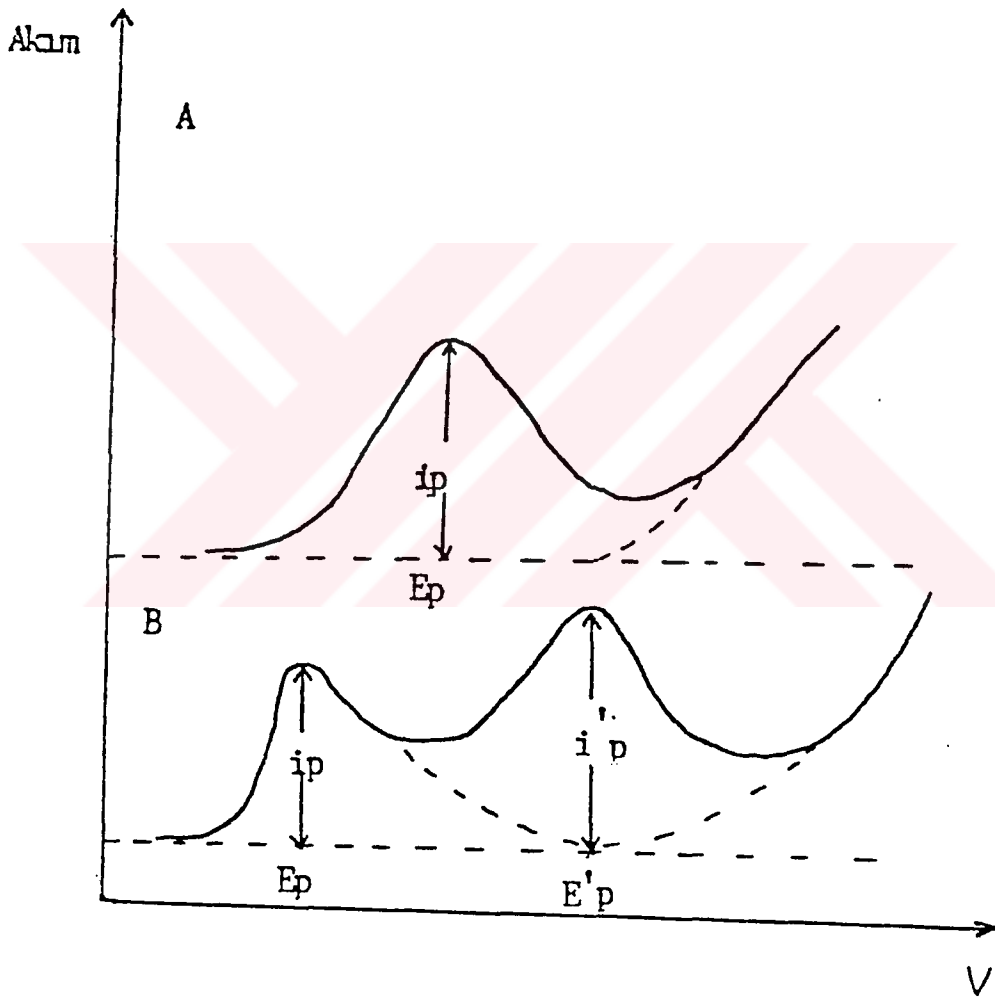
bir potansiyel taraması (0 V 'dan 2.0 V 'a kadar) yapılır. LSV iki farklı şekilde gerçekleştirilir. Birinci yöntemde doğru akım polarografide kullanıldığı kadar yavaş tarama; civa birikintisi, asılı civa damlası yada katı elektrod gibi yüzeyi sabit bir elektroda uygulanır. İkinci yöntemde ise yüzeyi belirli aralıklarla yenilenen bir elektrod (damlayan civa elektrod) kullanılabilir. Bir damla ömrü süresince voltaj taramasını tamamlamak amacıyla tarama, durgun elektrodlara göre daha hızlı olmalıdır. İndirgenmeler için tipik lineer sweep voltametri eğrileri aşağıdaki Şekil 2.7 de verilmektedir.

Şekilde pik potansiyeli  $E_p$ , pik akımı ise  $I_p$  ile gösterilmiştir, noktalı kısımlar ise elektroaktif madde yok iken artık akımı gösterir. Böyle eğrilerin şeklini kalitatif olarak yorumlamak için iki potansiyel aralığı dikkate almak yararlıdır.

İndirgen ve yükseltgen şekilleri çözeltide bulunan reversibl bir redoks sistemi için bir maksimumdan geçmesi gibi potansiyele bağlı akım gözlenebilir. Düzlemsel elektrod ile elde edilen pik potansiyeli için şu eşitlik yazılabilir:

$$(E_p)_{düzlem} = E_{1/2} \pm 1,1 \cdot \frac{RT}{nF}$$

Bu eşitlikte;  $E_p$ , pik potansiyeli;  $E_{1/2}$ , doğru akım polarografik yarı dalga potansiyeli;  $n$ , elektrod reaksiyonuna katılan elektron sayısıdır. Pozitif işaret, anodik reaksiyon; negatif işaret, katodik reaksiyon için kullanılır.



Sekil 2.7. Tipik Bir LSV Eğrisi

A: Tek bir türün indirgenmesi

B: İki türün indirgenmesi

Reversibl sistemler için  $A \text{ cm}^2$  alanlı düzlemsel bir elektrodaki lineer tarama ile elde edilen pik akımı ( $\mu\text{A}$ ) aşağıdaki eşitlikle verilmiştir.

$$I_p = k n^{3/2} A D^{1/2} c v^{1/2}$$

Bu ifadede:

$k$  : Randles-Sevcik sabiti

$c$  : Litrede milimol cinsinden konsantrasyon

$v$  : Saniyede volt olarak tarama hızı

Eşitlikte görüldüğü gibi, akım; elektrodun alanına, elektroaktif türlerin konsantrasyonuna ve difüzyon katsayısına bağlıdır. Pik akımı  $k$  değerinden başka  $n$  sayısına bağlı olarak da değişir.

Lineer sweep voltametri yöntemi, kalitatif ve kantitatif analizler için kullanılabilir. Saptama sınırı  $10^{-8}$  M düzeyindedir.

### 2.3. POLAROGRAFİK NİTRİT TAYİN YÖNTEMLERİ

#### 2.3.1. Katalitik Direkt Polarografik Yöntemler

Nitrit iyonunun katalitik sistemde direkt polarografik tayini ilk olarak Yukiharu ve Norihide (1966) tarafından

askorbat mevcudiyetinde yapılmıştır. Bu polarografik çalışma 0.01 M krom(III) glisin kompleksinde ve pH 6-7 'de veronal tampondaki 0.1 M sodyum perkloratta 0-20 ppm nitrit için başarılı olmuştur ve askorbat % 0.1 'e kadar girişim yapmamıştır.

Huynh ve arkadaşları (1969) artan alternatif akımı kullanarak polarografik metodla nitrat ve nitrit tayini yapmışlardır. Nitrat ve nitritin polarografik dalgaları üst üste geldiği için her ikisini içeren örneklerde bireysel tayinler yapılamamıştır. Bu durumda her ikisinin toplamı 0.1 N potasyum permanganatla oksidasyon sonrası tayin edilmiş ve sonra nitrat, nitritten farklı olarak  $UO_2Cl_2$  metodu ile tayin edilmiş aradaki farktan nitrit miktarına geçilmiştir. Bu çalışma su, ispanak ve havuç dokularına uygulanmıştır.

Katalitik sistemde nitrit iyonunun direkt tayin yöntemlerinden birisi de Buldini ve Ferri (1984) tarafından nükleer atıklarda uygulanan diferansiyel puls polarografik yöntemidir. Bu çalışmanın amacı nitrit ve nitratın organik ve inorganik maddelerden ayrılmasıdır. Ayrılma Amberlite IRA 410 [ 9002-26-0 ] ( Cl-from ) anyon değiştirici reçine ile yapılmış, alınan maddenin bir kısmına 1 M sodyum klorür, 0.012 M hidroklorik asit ve 0.0001 M uranyum(VI) ilave edilmiş nitrit ve nitratın Ag/AgCl elektroda karşı -0.93 V 'da polarografik toplam tayini yapılmıştır. Diğer bir kısım

örnekte indirekt olarak nitrit tayini yapılmıştır. Bu metod 5 ng N/ml gibi düşük nitrit ve 200 ng N/ml gibi nitrat düzeylerinin tayininde kullanılmıştır.

Aynı esaslı bir başka çalışmada nitrit iyonunun direkt tayini için  $\text{Co(II)-H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\text{-NO}_2^-$  'den oluşmuş katalitik sistem düşen ve asılı civa damla elektrodlar kullanarak doğru akım polarografi, doğru akım tast polarografi, lineer potansiyel sweep normal ve diferansiyel puls polarografi teknikleriyle incelenmiştir (Zarebski, 1987). Katalitik akımların non katalitik akımlara oranı şeklinde belirtilen katalitik etkinin alabileceği en yüksek değerin elde edilmesi doğru akım ve doğru akım tast polarografisi gibi düşük voltaj tarama hızı kullanarak başarılabilmiştir. Katalitik akım metal konsantrasyonu ile orantılıdır ve katalitik sistemlerin uygulanması tayinin duyarlılığını 1-2.5 kat arttırmış ve nitrat, nitritin tayininde girişim yapmamıştır. Yine aynı esasa dayanarak yapılan bir diğer tayin yönteminde Molibden(VI) ile nitritin katalizlenmiş redüksiyonunda polarografik çalışma yapılarak Molibden(VI) 'nın Ag/AgCl elektroda karşı -0.45 V 'da 0.1 mol/l potasyum klorür içinde pH 2-3 'de civa elektrod üzerinde depo edilmesi nitritin indirgenmesini katalizlemiştir (Jiangu et al., 1989).

Bir diğer çalışmada bromat-metil kırmızısı katalitik sisteminde nitrit tayini için osilopolarografik yöntem su

örneklerine uygulanmıştır (Jiang et al., 1992). Yüksek duyarlıklı bu katalitik metod 0.1 ml den az suda nitrit tayini için uygulanmış ve nitrit 100 °C 'de 0.016 mol/l sülfürik asit içinde bromat ile metil kırmızısının yavaş redoks reaksiyonunu katalizlemiş ve -0.56 V 'da duyarlı bir osilopolarografi dalgası gösteren bu yöntem nitrit, metil kırmızısı için saptama tekniği olarak kullanılmıştır.

### 2.3.2. Diğer Direkt Polarografik Yöntemler

Nitrit iyonunun direkt tayin yöntemlerinden birisi de katodik single-sweep polarografik yöntemle (Lu and Yao, 1989) su örneklerine uygulanmıştır. Katodik taramalarda pik yüksekliği  $5 \times 10^{-9}$  g/ml -  $6 \times 10^{-7}$  g/ml bölgesinde nitrit konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak bulunmuş, saptama limiti  $4 \times 10^{-9}$  g/ml olarak elde edilmiş ve deneyler bu polarografi dalgasının bir adsorpsiyon dalgası olduğunu göstermiştir.

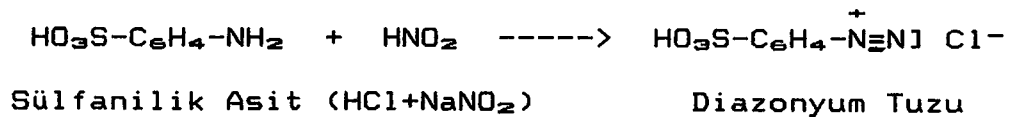
Nitrit iyonunun polarografik tayinine olanak veren yöntemlerden birisi de (Rooney, 1964) tamponlu çözeltilerde katod ışını polarografisi ile yapılmış ve en iyi tamponlanmış çözeltilerde anyonların tayini için uygulanmıştır. Bu yöntemle;  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{BrO}_3^-$ ,  $\text{IO}_3^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  ve  $\text{SO}_3^{2-}$  anyonları doğrudan tayin edilmiş,  $\text{Br}^-$  ve  $\text{I}^-$  ise  $\text{BrO}_3^-$  ve  $\text{IO}_3^-$  'a oksidasyondan sonra tayin edilmiştir.

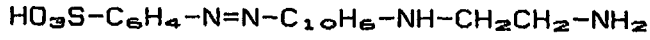
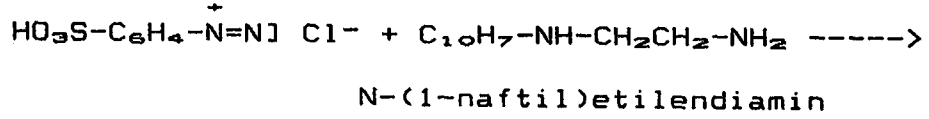
Bir diğ er ç alışmada nitrit ve askorbatın değişik pH lar da eř zamanlı polarografik tayini gerç ekleştirilmiştir ( Yukihar u and Norihide, 1967 ). Bu y öntemde % 0.01 nitrit ve % 0.1 askorbat i çeren bir sistemde miktarlarda 72 saat bekleme sonrasında 37 °C 'de pH: 7 'de askorbatın % 25 'i, pH: 5.5 'da nitrit ve askorbatın % 50 kadar ı ve pH: 5 'de nitritin % 100 'ü ve askorbatın % 60 'ı ayrışmıştır. Düşük derecelerde ( 0-4 °C ) her iki bileşik ç ok az ayrışmış, daha düşük pH ve daha yüksek sıcaklıkta her iki maddenin ayrışan miktarları daha ç ok olmuştur. Bu y öntemde et ürünlerinin işlenmesinde kullanılan yiyecek katkıları, sodyum klorür, askorbat ve isoaskorbat nitrit tayininde girişim yapmamış fakat nitrat, nikotinamid, sistin ve fosfatlar girişim yapmıştır.

### 2.3.3. İndirekt Polarografik Yöntemler

#### 2.3.3.1. Diazolama-Kenetleme Üzerinden İndirekt Tayinler

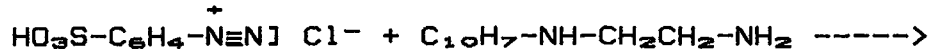
Nitrit iyonunun indirekt polarografik tayininde en önemli yöntem diazolama-kenetleme reaksiyonu sonucu oluşan azo bileşikleri üzerinden gerç ekleştirilmektedir.





Nitrit iyonunun diazolama-kenetleme reaksiyonu eşliğinde diferansiyel puls polarografik yöntemle indirekt tayini ilk kez Sulaiman ve Akrawi ( 1984 ) tarafından gerçekleştirilmiştir. Hızlı ve duyarlı olan bu metod nitrit tayini için o-, m- ve p-aminobenzoik asit diazonyum tuzlarının DPP uygulamasına dayanmıştır. Bu çalışmada o-, m-, p-aminobenzoik asit kullanılmasıyla nitrit iyonunun saptama limitleri sırasıyla  $0.87 \times 10^{-7}$  M,  $1.73 \times 10^{-7}$  M ve  $4.3 \times 10^{-7}$  M olarak bulunmuştur. Aynı reaksiyon su içindeki nitritin doğru akım polarografik yöntemle belirlenmesi için de kullanılmıştır (Liu et al., 1987).Amonyaklı ortamda nitrit-sülfanilik asit-N-(1-n-naftil) etilendiamin ile oluşturulan azo bileşiklerinin polarografik davranışı incelenmiş ve portakal sarısı azot bileşiği -0.5 V da duyarlı bir adsorpsiyon dalgası vermiştir. Nitrit iyonunun saptama limiti 1 ng/ml 'dir.

1988 yılında Fogg ve Alonso, diazolama-kenetleme reaksiyonu eşliğinde diferansiyel puls adsorptif stripping voltametri yöntemiyle çalışmışlardır. Bu metod anilinin diazolanmasına ve seyreltilmiş perklorik asit çözeltisinde azolin ile diazonyum tuzunun birleşmesine dayanmış, reaksiyon



N-(1-naftil)etilendiamin

Nitrit iyonunun diazolama-kenetleme reaksiyonu eşliğinde diferansiyel puls polarografik yöntemle indirrekt tayini ilk kez Sulaiman ve Akrawi ( 1984 ) tarafından gerçekleştirilmiştir. Hızlı ve duyarlı olan bu metod nitrit tayini için o-, m- ve p-aminobenzoik asit diazonyum tuzlarının DPP uygulamasına dayanmıştır. Bu çalışmada o-, m-, p-amino-benzoik asit kullanılmasıyla nitrit iyonunun saptama limitleri sırasıyla  $0.87 \times 10^{-7}$  M,  $1.73 \times 10^{-7}$  M ve  $4.3 \times 10^{-7}$  M olarak bulunmuştur. Aynı reaksiyon su içindeki nitritin doğru akım polarografik yöntemle belirlenmesi için de kullanılmıştır (Liu et al., 1987).Amonyaklı ortamda nitrit-sülfanilik asit-N-(1-n-naftil) etilendiamin ile oluşturulan azo bileşiklerinin polarografik davranışı incelenmiş ve portakal sarısı azot bileşiği -0.5 V da duyarlı bir adsorpsiyon dalgası vermiştir. Nitrit iyonunun saptama limiti 1 ng/ml 'dir.

1988 yılında Fogg ve Alonso, diazolama-kenetleme reaksiyonu eşliğinde diferansiyel puls adsorptif stripping voltametri yöntemiyle çalışmışlardır. Bu metod anilin diazolanmasına ve seyreltilmiş perklorik asit çözeltisinde azolin ile diazonyum tuzunun birleşmesine dayanmış, reaksiyon

karişımı asılı civa elektrodta oluşan azo bileşiğinin tayini ve birikimi için pH 9 'a ayarlanmıştır.

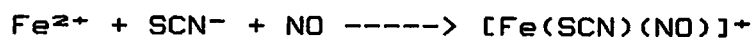
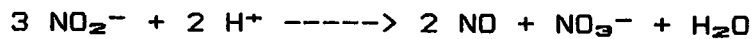
Aynı esasa dayanan bir diğer çalışma su, yiyecek ve biyolojik materyallere uygulanarak diferansiyel puls polarografik yöntemle nitrit iyonunun tayini gerçekteştirilmiştir (Wong and Li, 1990). Bu yöntemde nitrit DPP ile -0.2 V ( yada -0.23 V ) 'da doygun kalomel elektrodta karşı dufen civa damla elektrod ile sulfanilamid ( ya da p-aminoasetofenon ) diazonyum bileşiklerinin indirgenme dalgasının yüksekliğinin ölçülmesi ile belirlenmiştir. Sulfanilamid sisteminde ölçü eğrisinin 5 ppb - 1.3 ppm NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, p-aminoasetofenon sisteminde ise 10 ppb - 1.2 ppm NO<sub>2</sub><sup>-</sup>için doğrusal olduğu görülmüştür.

Aynı yöntemle yapılan bir diğer çalışmada, nitrit iyonunun mikromolar konsantrasyonlarının tayini, düşük pH 'da sulfanilik asit ile diazolama ve N-(1-naftil)etilendiamin2HCl ile kenetleme reaksiyonu eşliğinde yapılmıştır (Sabharwal, 1990). Destek elektrolit olarak 0.01 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ile pH 2 'de pik akımı 0.02 V 'da doygun kalomel elektrodta karşı basit sulu çözeltilerde çalışılarak nitrit iyonu 5x10<sup>-9</sup> M - 2.12x10<sup>-6</sup> M konsantrasyon aralığında tayin edilmiştir.

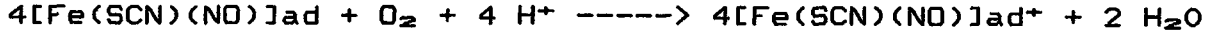
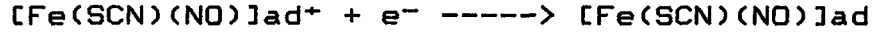
### 2.3.3.2. Metal Tuzu ve Tiyosiyanat Tuzu Eşliğinde Yapılan Tayinler

Nitrit iyonu tayini için yapılan çalışmalardan birisi de metal tuzu ve tiyosiyanat tuzu ile polarografik redüksiyon mekanizması eşliğinde yapılan incelemeler olmuştur.

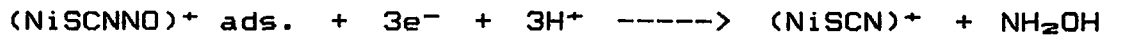
Bu esasa dayanan ilk çalışma Zhao ve Cai ( 1988 ) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma; Fe(II) ( amonyum demir sülfat ), tiyosiyanat ( sodyum tiyosiyanat ), nitrit ( sodyum nitrit ) ve sodyum perklorat ( destek elektrolit ) içeren bir çözeltide  $[Fe(SCN)(NO)]^+$  oluşmasıyla neticelenmiş ve bu üçlü kompleks civa damla elektrod ile doymun kalomel elektroda karşı  $-0.5$ ,  $-0.8$  ve  $-1.0$  V 'da üç indirgenme dalgası göstermiştir. Oksijen varlığında, birinci indirgenme ile ilgili olan ( $-0.5$  V) katalitik dalga  $3 \times 10^{-9}$  M -  $1 \times 10^{-6}$  M arasında eser nitrit tayini için kullanılmıştır. Bu yöntemde saptama limiti  $1 \times 10^{-9}$  ( 0.46 ppb  $NO_2^-$  ) olarak bulunmuştur. Elektroddaki reaksiyonun işlem mekanizması lineer sweep polarografi, doğru akım polarografi, siklik voltametri, potansiyel kontrollü kulometri yöntemleriyle çalışılmıştır.



Polarografik Redüksiyon Mekanizması :

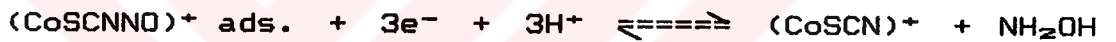
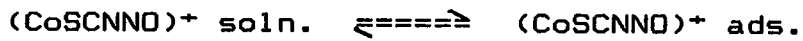


Bu yöntem daha sonra su, sucuk, sosis örneklerine uygulanmıştır (Gao et al., 1990). Bu çalışmada amonyum tiyosiyanat ve nikel(II) sülfat içeren 0.2 M sülfürik asit ortamında nitritin single sweep polarografik tayini yapılmıştır. Çözelti içinde oluşan üçlü kompleks  $[\text{Ni}(\text{SCN})(\text{NO})]^+$  civa elektrodun yüzeyinde kuvvetlice adsorplanmış ve -0.57 V 'da doygun kalomel elektroda karşı  $2 \times 10^{-9}$  M -  $1 \times 10^{-6}$  M nitrit konsantrasyonuna bağlı olarak bir adsorptif polarografi dalgası vermiştir. Bu çalışmada nitritin saptama limiti  $8 \times 10^{-9}$  M olarak bulunmuş ve polarografi dalgası adsorplanmış  $(\text{NiSCNNO})^+$  kompleksinde NO in  $\text{NH}_2\text{OH}$  'e indirgenmesine dayanmıştır.



Bu esasa dayanan bir başka çalışmada nitrit, kobalt(II)-tiyosiyanat ortamında su, yiyecek ve tükürük içinde single sweep polarografik yöntemle tayin edilmiştir (Gao and Zhao,

1990). Askorbik asit, tiosiyanat, kobalt(II) içeren asidik ortamda ( pH:2 ) meydana gelen üçlü kompleks  $[\text{Co}(\text{SCN})(\text{NO})]^{+}$  civa elektrodun yüzeyinde kuvvetlice adsorplanmış ve  $-0.59 \text{ V}$  da doygun kalomel elektroda karşı adsorptif polarografi dalgası vermiştir. Bu yöntemle nitrit iyonu  $1 \times 10^{-9} \text{ M} - 8 \times 10^{-7} \text{ M}$  konsantrasyon aralığında tayin edilmiş ve kompleks içindeki azotmonoksidin hidroksilamine indirgenmesi polarografi dalgası vermiştir.



Gao ve Zhao (1990) aynı esasa dayanan bir başka çalışmada su, sucuk, sosis, tükürük ve salamura örnekleri üzerinde yine single sweep polarografik nitrit tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada da Nikel(II)-tiosiyanat-nitrit kompleksinin polarografik adsorptif dalgası üzerinden inceleme yapılmış, kompleks civa elektrodun yüzeyinde kuvvetlice adsorplanmış ve burada da polarografi dalgasının kompleks içindeki azotmonoksidin  $-0.57 \text{ V}$  'da doygun kalomel elektroda karşı hidroksilamine indirgenmesiyle ilgili olduğu düşünülmüş ve nitritin saptama limiti  $8 \times 10^{-9} \text{ M}$  olarak bulunmuştur.

Metal tuzu ve tiosiyanat tuzu eşliğinde yapılan bir başka çalışmada doğal su, yiyecek, tükürük ve nitratta nitrit

tayini yapılmıştır (Li et al., 1992). Nitrit, kobalt(II)-tiyosiyanat-askorbik asit çözeltisinde ( pH:2 ), civa elektrodda -0.59 V 'da doymuş kalomel elektrodda karşı indirgenebilen üçlü bir kompleks oluşturmuş  $[\text{CoSCNNO}]^+$  ve nitrit iyonu single sweep polarografik, diferansiyel puls polarografik ve doğru akım polarografik yöntemlerle sırasıyla  $1 \times 10^{-8}$  -  $8 \times 10^{-4}$  M,  $1 \times 10^{-4}$  -  $4 \times 10^{-8}$  M ve  $1.5 \times 10^{-6}$  -  $2 \times 10^{-4}$  M konsantrasyon aralığında tayin edilmiş ve kompleks içindeki NO 'in hidroksilamine indirgenmesi polarografi dalgası oluşturmuştur.

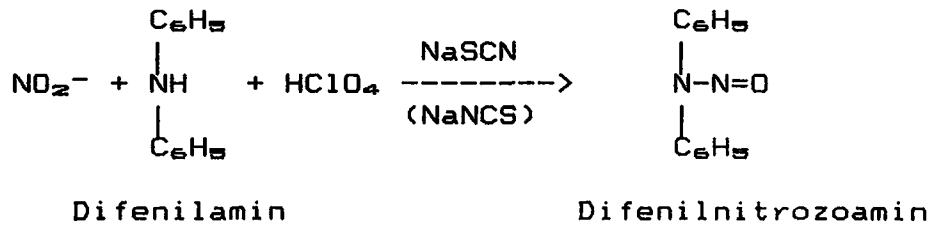
Aynı esasa dayanan bir başka çalışmada çevresel sularda nitrat ve nitritin eşzamanlı polarografik tayini yapılmıştır (Cai et al., 1989). Bu çalışmada Zn tozu 0.5 mol/l HCl ile çalkalandıktan sonra nitratı ( $\text{NO}_3^-$ ) nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) indirgemiş ve toplam nitrit lineer sweep polarografisi ile Fe(II)-SCN çözeltisi içinde nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) ile girişim yapmaksızın tayin edilmiş ve saptama limiti  $4 \times 10^{-8}$  M (2.48 ppb  $\text{NO}_3^-$ ) olarak bulunmuştur.

Daha sonra gerçekleştirilen bir başka çalışmada askorbik asit ortamında demir(II) iyonu ile  $(\text{FeNO})^{2+}$  kompleksi üzerinden nitrit iyonunun single sweep polarografik tayini yapılmıştır (Mo et al., 1990). Burada  $(\text{FeNO})^{2+}$  kompleksi, demirli iyon (amonyum demir sülfat), nitrit (sodyum nitrit) ve askorbik asit içeren bir çözeltide oluşturulmuştur. Düşen

civa damla elektrod ile bu kompleks  $-0.58$  V 'da katalitik bir dalga oluşturulmuş ve bu özelliğiyle de eser miktarda  $1 \times 10^{-7}$  M  $-4 \times 10^{-4}$  M konsantrasyon aralığında nitrit tayini için kullanılmıştır. Askorbik asidin fonksiyonu elektroaktif kompleksin oluşumunu tamamlamak için  $\text{NO}_2^-$  'i  $\text{NO}$  'e indirgemek olmuş ve elektrod reaksiyon mekanizması lineer sweep polarografi, doğru akım polarografisi, siklik voltametri ve spektrofotometri ile çalışılmıştır. Bu analitik metod sucuk, sosis ve su örneklerine uygulanmıştır.

### 2.3.3.3. Difenilnitrozoamin Üzerinden İndirekt Tayinler

Nitrit iyonunun indirekt tayin yöntemlerinden birisi de nitritin difenilamin ile oluşturduğu difenilnitrozoamin üzerinden diferansiyel puls polarografisi yöntemi ile yapılan çalışmalar olmuştur.



Bu konudaki ilk çalışma Chang ve arkadaşları (1977) tarafından gerçekleştirilmiştir. Nitrit iyonu, katalist olarak sodyum tiyosiyanat ( $\text{NaSCN}$ ) ile düşük pH 'da difenilamin ile reaksiyona girerek oluşan difenilnitrozoamin

üzerinden diferansiyel puls polarografisi yöntemiyle tayin edilmiştir. Difenilnitrozoamin pH 1-2 'de doygun kalomel elektroda karşı  $-0.55 - (-0.6)$  V arasında diferansiyel puls polarogramı vermiş ve oluşan difenilnitrozoaminin 46 saate kadar çok stabil olduğu görülmüştür. Hesaplanmış olan limit basit sulu çözeltilerde ( $\text{NO}_2^-$  olarak) 0.3 ppb olarak bulunmuş işlem insan tükürüğü, işlenmiş etler ve su örneklerine uygulanmıştır.

Bu yöntem daha sonra diferansiyel puls polarografik olarak çeşitli sularda, et ve işlenmiş et ürünlerinde nitrit tayinine uygulanmak amacıyla Metrohm Firması bülteninde yer almıştır (Metrohm). Buna göre örneğe uygulama bülteninde açıklanan şekilde potasyum tiyosiyanat ve difenilamin çözeltisi katıldıktan sonra; perklorik asit ile pH değeri ayarlanarak  $-0.52$  V pik potansiyelinde DP polarografik saptama yapılmıştır. Et ve işlenmiş et ürünlerinde ise proteinler çöktürüldükten sonra aynı işlemler yapılarak nitrit miktarı saptanmıştır.

Aynı reaksiyona dayanan çalışmalardan birisi de nükleer atıklardaki nitrit ve nitratın diferansiyel puls polarografik tayini ile yapılmıştır (Buldini and Ferri, 1984). Bu metodun amacı nitrit ve nitratın organik ve inorganik maddelerden ayrılması olmuştur. Ayrılma Amberlite IRA 410 [ 9002-26-0 ] ( Cl-from ) anyon değiştirici reçine ile yapılmıştır. Sonra alınan maddenin bir kısmına 1 M NaCl 0.012 M HCl ve 0.0001 M

U(VI) ilave edilmiş, nitrit ve nitratın Ag/AgCl elektroda karşı  $-0.93$  V 'da polarografik toplam tayini yapılmıştır. Daha sonra alınan maddenin ikinci bir kısmına da  $6.5 \times 10^{-9}$  M difenilamin,  $2.5 \times 10^{-3}$  M NaNCS ve  $3 \times 10^{-2}$  M  $\text{HClO}_4$  eklenmiş ve  $\text{NO}_2^-$  'in Ag/AgCl elektroda karşı  $-0.52$  V 'da diferansiyel puls polarografisi yöntemi ile tayini yapılmıştır. Bu çalışmada nitrit iyonunun tayin sınırı  $5$  ng N/ml olarak bulunmuştur.

Aynı yöntemeye dayanan bir başka çalışmada nitrit ( $0.001$ - $4$  mg/l),  $\text{AcOH-MeOH}$  (1:1) içinde hazırlanmış  $10^{-2}$  M difenilamin çözeltisinin su ve meşrubatlara 1:1 oranında ilave edilmesinden sonra birbiriyle ilgili üç elektrodu (civa damla elektrod, platin yardımcı elektrod, referans doygun kalomel elektrod) kullanarak DPP ile tayin edilmiştir (Polak et al., 1989). Tayin difenilamin ilave edilmesinden hemen sonra tamamlanmış ve duyarlılık adsorptif stripping voltametri ile arttırılabilmiştir.

Yine aynı esaslı bir diğer çalışma da işlenmiş yiyeceklere uygulanmış ve aynı anda azot gazı geçirilerek nitrit ve nitratın diferansiyel puls polarografisi yöntemiyle tayini yapılmıştır (Holak and Specchio, 1992). Nitrit ve nitratın sodyum bromür ile azotmonoksit indirgenmesinden sonra difenilamin içeren destek elektrolit içindeki azotmonoksit ile reaksiyon kabından azot geçirerek temizlenmiş, azot monoksit difenilamin ile reaksiyona girerek

buharlaşmayan elektroaktif madde olan difenilnitrozoamini meydana getirmiştir. Akım pik potansiyelinin başladığı bir voltajda gözlenmiş, nitritin indirgenmesi sulandırılmış sülfürik asit ortamında oluşmuştur.

#### 2.3.3.4. Diğer İndirekt Tayin Yöntemleri

Nitrit iyonunun indirekt polarografik tayinine olanak veren yöntemlerden birisi de bu iyonun tiyoüre ile formamidin disülfüre dönüşümüyle single sweep polarografik yöntemle olmuştur (Cai et al., 1991). Bu çalışmada nitrit ve tiyoüre arasındaki reaksiyondan oluşan formamidin disülfürün indirgenmesi nitrit konsantrasyonuna tekabül eden bir pik oluşturmuş (hafif asidik ortam), yöntem  $5 \times 10^{-7}$  mol/l saptama limiti ile az miktarda nitrit tayini için kullanılmıştır.

Bir başka polarografik çalışmada ise nitrit iyonu, 0.1 M hidroklorik asitte N-benzilsülfanilik asit reaksiyonu ile elde edilen N-nitrozo bileşiğinin limit akımı ölçülerek tayin edilmiştir (Serova and Lukicheva, 1986). Reaksiyon ürününün yarı dalga potansiyeli kalomel elektroda karşı  $-0.63$  V nitrozodimetilamin ( $-0.95$  V) redüksiyon potansiyelinden kafi derecede farklı bulunmuş ve böylece her iki analit aynı örnek çözeltisinde ekstra ayırma kademesi olmaksızın tayin

edilmişlerdir. Tayin limiti %  $1 \times 10^{-8}$   $\text{NO}_2^-$  kütlesi olarak bulunmuştur.

Çeşitli sebzelerde ve sularda nitrit tayini için yapılan bir diğer çalışma da metilen mavisi üzerinden asitli ortamda gerçekleştirilmiştir (Chen and Zi, 1992). Bu çalışmada metilen mavisinin polarografik dalgasının durumu ve asidik ortamda nitrozolama ürünü incelenmiş ve nitrozolama ürününün polarografik dalgasının pik potansiyeli doygun kalomel elektroda karşı  $-0.65$  V bulunmuştur. Pik yüksekliği  $0.002-0.24$   $\mu\text{g/ml}$  bölgesinde nitrit konsantrasyonu ile orantılı olmuş ve metod iyi duyarlılık ( $0.002$   $\mu\text{g/ml}$ ) ve seçicilik göstermiştir. Polarografi dalgası ise nitrozolama ürününün adsorpsiyon dalgası olup yaygın iyonların bir çoğu tayinde etki göstermemişlerdir.

Diğer bir indirekt polarografik nitrit tayini ise iyodür iyonu üzerinden titrimetrik ve polarografik mikro tayin olmuştur (Amin et al., 1983). Nitrit ( $5-2000$   $\mu\text{g/ml}$ ) asitli ortamda iyodürü iyoda yükseltmiş açığa çıkan iyot kloroform içine alınmış sonra % 1 sodyum bisülfid ile reaksiyona sokularak geri reaksiyon ile iyodüre indirgenmiştir. Iyodür iyonu brom oksidasyonu ile kuvvetlendirilmiş, titrimetrik veya polarografik olarak tayin edilmiştir. Bu iki metod arasındaki değişim  $2000$   $\mu\text{g}$  'lık nitrit için % 2 'yi

aşmamıştır fakat 5 µg 'lık seviyeye kadar bu fark % 3.2 'yi geçebilmiştir.



### 3. DENEYSEL BÖLÜM

#### 3.1. MADDELER VE ÇÖZÜCÜLER (MERCK)

Sodyum nitrit, difenilamin, sodyum tiyosiyanat, perklorik asit, metanol, elementel çinko (destile su ile yıkanıp kurutulmuş), bidestile su (permanganat üzerinden destillenmiş).

#### 3.2. ÇÖZELTİLER

Sodyum nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) :  $1.0 \times 10^{-2}$  M (Stok çözelti)

Difenilamin ( $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NH}$ ) (çözelti A) :  $2.6 \times 10^{-3}$  M (% 40  
lık metanolde)

Sodyum tiyosiyanat ( $\text{NaSCN}$ ) (çözelti B) : 0.1 M

Perklorik asit ( $\text{HClO}_4$ ) (çözelti C) : 0.4 M

Belirteç çözeltisi : 5.0 ml A + 10.0 ml B + 10.0 ml C karışımı bidestile su ile 100.0 ml 'ye tamamlandı. Çözelti günlük hazırlandı ve havayla oluşabilecek difenilnitrozoamini parçalamak üzere bir çinko tanesi içeren kahverengi şişede saklandı.

### 3.3. GEREÇLER

Polarograf (Metrohm Herisav Polarecord E 506), analitik terazi (Mettler H72, 0.1 mg'a kadar duyarlı), etüv (Heraeus), bidestile su cihazı (NS 278.TS 8234), goache krozesi ve çeşitli cam malzemeler.

### 3.4. ÇALIŞMA YÖNTEMİ

#### 3.4.1. Diferansiyel Puls Polarografik Çalışma Koşulları

Nitrit iyonunun perklorik asitli ortamda pH 1.5 da difenilamin ile, sodyum tiyosiyanatın katalizörlüğünde, oluşturduğu difenilnitrozoaminin polarografik olarak indirgenmesine dayanan diferansiyel puls polarografik tayin yönteminin polarografik optimum koşulları incelendi. Buna göre 5 ml  $2.60 \times 10^{-3}$  M (% 40 'lık metanolde) difenilamin, 10 ml 0.1 M sodyum tiyosiyanat ve 10 ml 0.4 M perklorik asit içeren belirteç karışımı su ile 100 ml 'ye seyreltildi. 1 µg/ml nitrit iyonu içeren sulu çözeltinin 1 ml 'si 25 ml 'lik bir balon jojeye aktarıldı ve belirteç çözeltisiyle hacmine tamamlandı (40 ng/ml nitrit iyonu).

Bu çözeltiden 10 dakika süre azot gazı geçirildikten sonra polarogram elde edilebilen en yüksek hassasiyette çalışılarak diferansiyel puls polarogramın optimum koşulları belirlendi.

Bu koşullar :

$U_{baslangic}$  : -0.4 V

$\Delta U$  : -0.5 V

$t_{damla\ emru}$  : 0.8 s

Damla Hızı : 2 mm/damla

Hassasiyet :  $1.0 \times 10^{-9}$  (A/mm)

Çalışma Elektrodu : Stasyoner Civa Damla Elektrod (SMDE)

Referans Elektrod : Ag/AgCl, KCl (3 M) Elektrod

Yardımcı Elektrod : Camı Karbon Elektrod

### 3.4.2. Standart Çözeltiler ve ölçü Eğrisi

105 °C 'de kurutulmuş sodyum nitritten 15 mg tartıldı ve 100 ml 'lik balon jøjeye konarak bidestile su ile hacmine tamamlandı. Elde edilen 100 µg/ml 'lik bu çözeltiden sıra ile 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ml alınarak 100 ml 'lik balon jöjelere aktarıldı ve her biri bidestile su ile 100 ml 'ye seyreltilerek 0.5-2.5 µg/ml  $NO_2^-$ iyonu içeren çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin her birinden 1 ml alınarak 25 ml 'lik balon jøjeye konuldu ve günlük olarak hazırlanan belirteç çözeltisiyle hacmine tamamlandı. Elde edilen bu standart çözeltilerden 10 dakika süreyle Azot gazı geçirildikten sonra belirlenen optimum çalışma koşullarında diferansiyel puls polarogramları alındı. aynı şekilde beş kez çalışılarak ortalama difüzyon akımı ( $\bar{I}_d$ ) değerleri ile son nitrit konsantrasyonları (0.02-0.1 µg/ml) arasında ölçü

egrisi hazırlandı. Regresyon analiziyle doğru denklemi  $\bar{I}d = 445 c + 4.78$  ( $r = 0.9997$ ) olarak hesaplandı. Sonuçlar Bölüm 4.1. 'de verilmektedir.

### 3.4.3. Tükürük Örneklerinin Çalışılması

Sinterleşmiş Goache krozesinden vakumla süzölmüş olan taze tükürük örneğinden 0.5 ml alınarak 25 ml 'lik balon jojeye aktarıldı ve günlük olarak hazırlanmış olan belirteç çözeltisiyle hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 10 dakika süreyle azot gazı geçirildikten sonra daha önceden belirlenen optimum çalışma koşullarında diferansiyel puls polarogramı alındı. Aynı çözeltinin üzerine 10 µg/ml nitrit iyonu içeren standart nitrit çözeltisinden 0.1 ml ilave edilerek polarogram alındı ve daha sonra tekrar 0.1 ml nitrit çözeltisi katılarak optimum çalışma koşullarında diferansiyel puls polarogram tekrar alındı.

Standart katmalardaki pik akımı yükselme değerlerinin ortalaması ile örnekteki nitrit miktarları hesaplandı. Bu yöntemle aynı örnekten iki paralel çalışma yapılarak ortalama değerler esas alındı. Böylece beş adet tükürük örneğinde standart katma yöntemi uygulanarak nitrit tayini gerçekleştirilmiş oldu. Sonuçlar 4.2. 'de verilmektedir.

## 4. SONUÇLAR

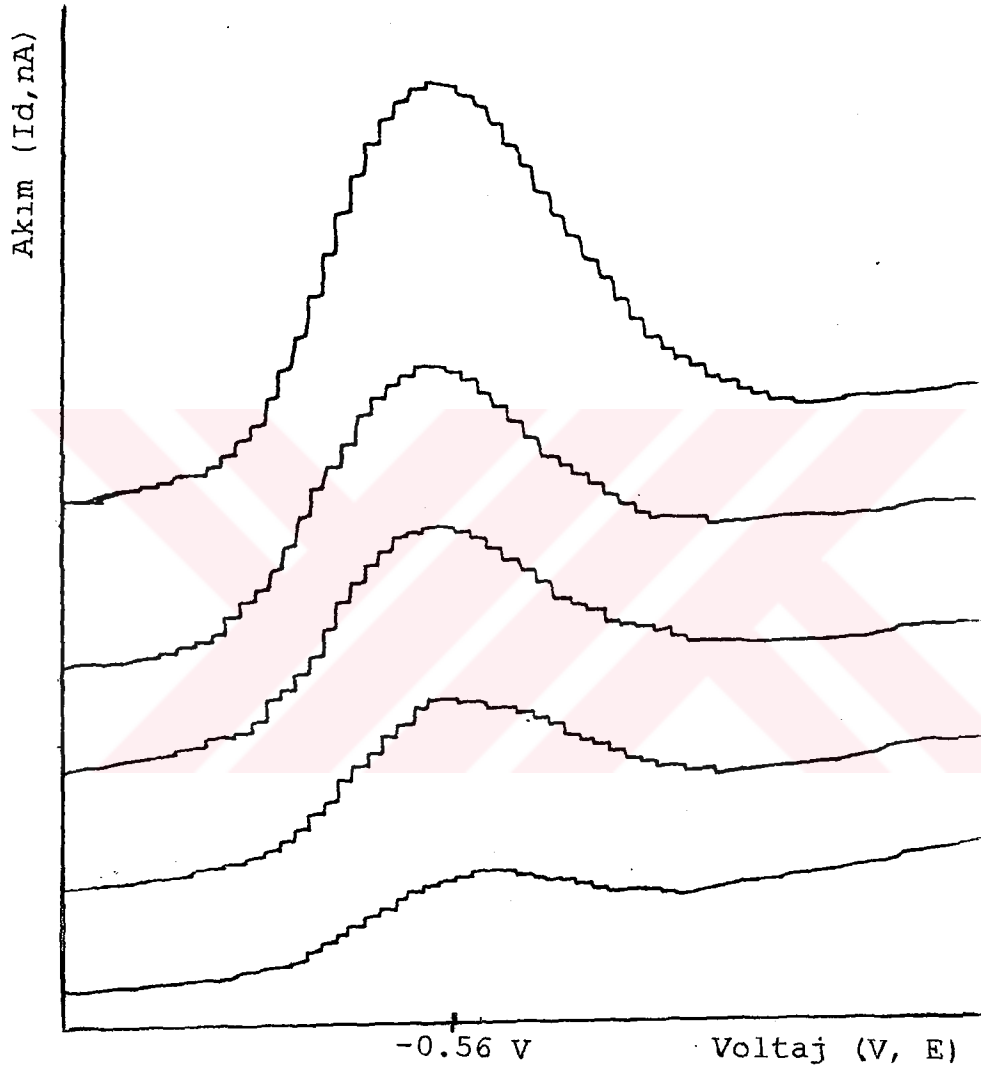
### 4.1. ÖLÇÜ EĞRİSİNİN HAZIRLANMASI

En son çözeltide 0.02-0.1  $\mu\text{g/ml}$   $\text{NO}_2^-$  konsantrasyon aralığında Bölüm 3.4.2. 'de anlatıldığı gibi çalışılarak Diferansiyel Puls Polarogramlar kaydedildi (Şekil 4.1.).

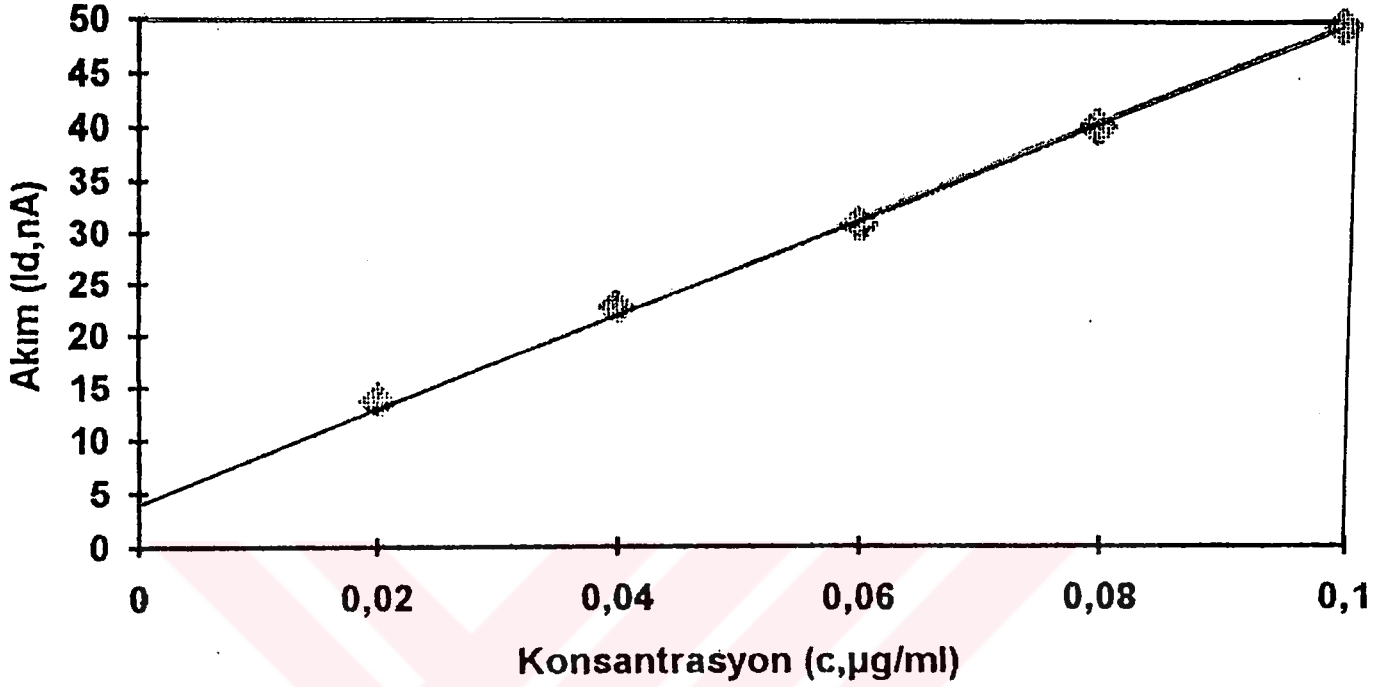
Aynı şekilde beş kez çalışılarak ve ortalama difüzyon akımı değerleri kullanılarak ölçü eğrisi hazırlandı (Şekil 4.2.). Ölçü eğrisine ait değerler ve regresyon analizinin sonuçları Cetvel 4.1. 'de görülmektedir.

$I_d$ (nA) $c$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$I_{d1}$	$I_{d2}$	$I_{d3}$	$I_{d4}$	$I_{d5}$	$\bar{I}_d$	$s$	$s$ --x100 $I_d$
0.02	13	10	18	17	11	13.8	3.56	25.82
0.04	22	25	26	22	19	22.8	2.77	12.57
0.06	31	32	34	31	27	31.0	2.55	8.22
0.08	38	45	44	41	33	40.2	4.86	12.10
0.1	54	49	54	51	40	49.6	5.77	11.63

Cetvel 4.1. Ölçü Eğrisine Ait Değerler ve Regresyon Analizi



Sekil 4.1. 0.02-0.1  $\mu\text{g/ml}$  Konsantrasyon Aralığında Nitrit iyonunun Diferansiyel Puls Polarogramları



$$\bar{I}_d = 445 c + 4.78 \quad (r = 0.9997)$$

Sekil 4.2. Standart Nitrit İyonu Çözeltisine Ait Ölçü Eğrisi

#### 4.2. Tükürük Örnekleriyle Elde Edilen Sonuçlar

Diferansiyel puls polarografik yöntem, beş denekten toplanan tükürük örneklerine uygulandı ve Bölüm 3.4.3. 'de anlatıldığı gibi çalışılarak nitrit iyonu miktarları tayin edildi. Elde edilen sonuçlar ve ilgili polarogramlar aşağıda görülmektedir.

ÖRNEK 1 :

Metod : Diferansiyel Puls

U<sub>baslangic</sub> potansiyeli : -0.4 V

$\Delta U$  : -0.5 V

$t_{damla\ emru}$  : 0.8 s

Damla hızı : 2 mm/damla

Hassasiyet :  $1.0 \times 10^{-9}$  (A/mm)

EP(DP) : -0.56 V

örnek : 54 nA (Şekil 4.3.a)

+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  60 nA  $\Delta = 6$  nA  $\bar{x} = 10.5$  nA

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  75 nA  $\Delta = 15$  nA

10.5 nA : 1  $\mu\text{g} = 54$  nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 5.14 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_s = x = 10.28 \mu\text{g}/\text{ml NO}_2^-$$

örnek : 54 nA (Şekil 4.3.b)

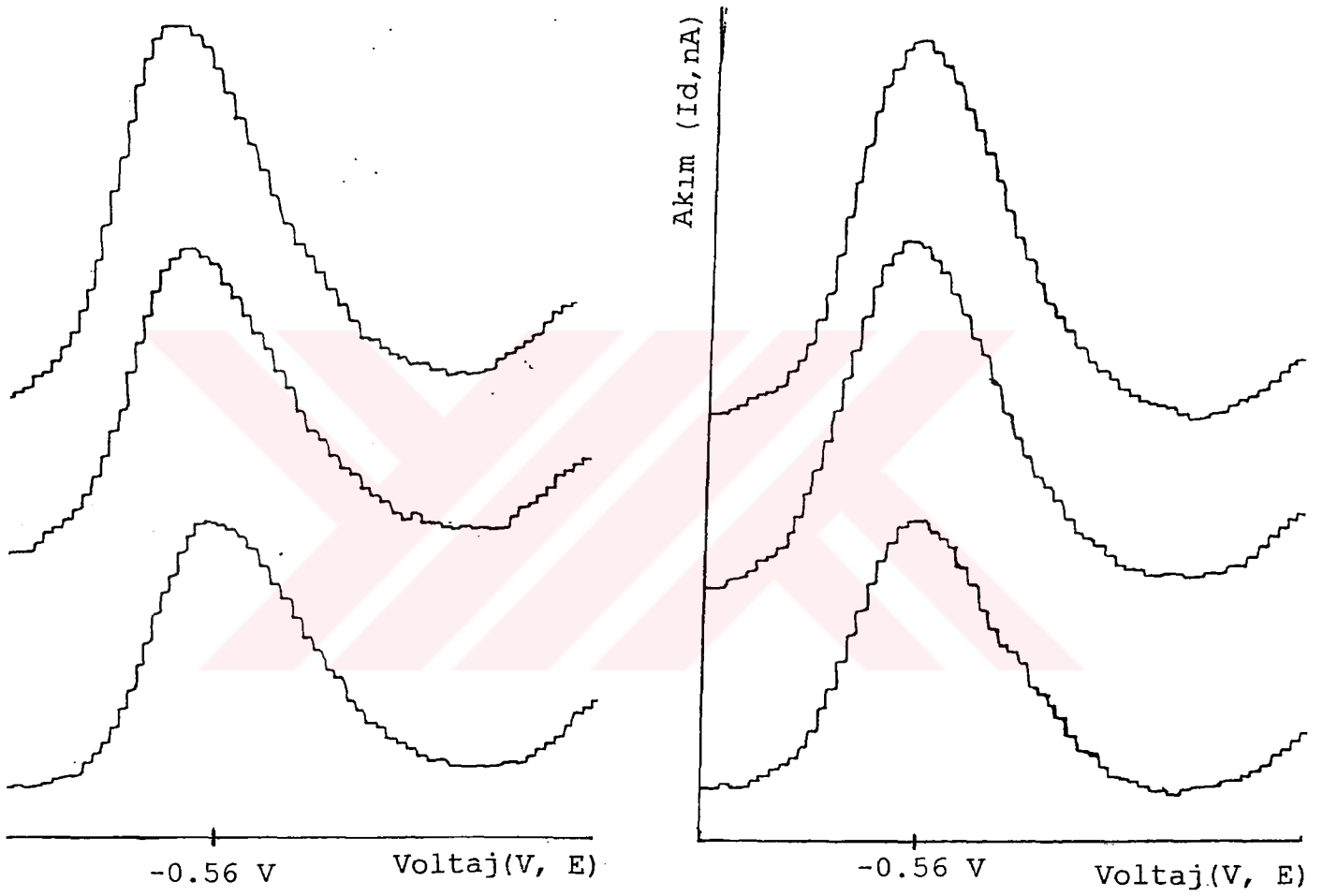
+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  70 nA  $\Delta = 16$  nA  $\bar{x} = 10.5$  nA

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  75 nA  $\Delta = 5$  nA

10.5 nA : 1  $\mu\text{g} = 54$  nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 5.14 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_s = x = 10.28 \mu\text{g}/\text{ml NO}_2^-$$



Sekil 4.3.a

Sekil 4.3.b

## ÖRNEK 2

örnek : 25 nA (Şekil 4.4.a)

+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  33 nA  $\Delta = 8 \text{ nA}$   $\bar{x} = 7 \text{ nA}$

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  39 nA  $\Delta = 6 \text{ nA}$

7 nA : 1  $\mu\text{g}$  = 25 nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 3.57 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_s = x = 7.14 \mu\text{g/ml NO}_2^-$$

örnek : 25 nA (Şekil 4.4.b)

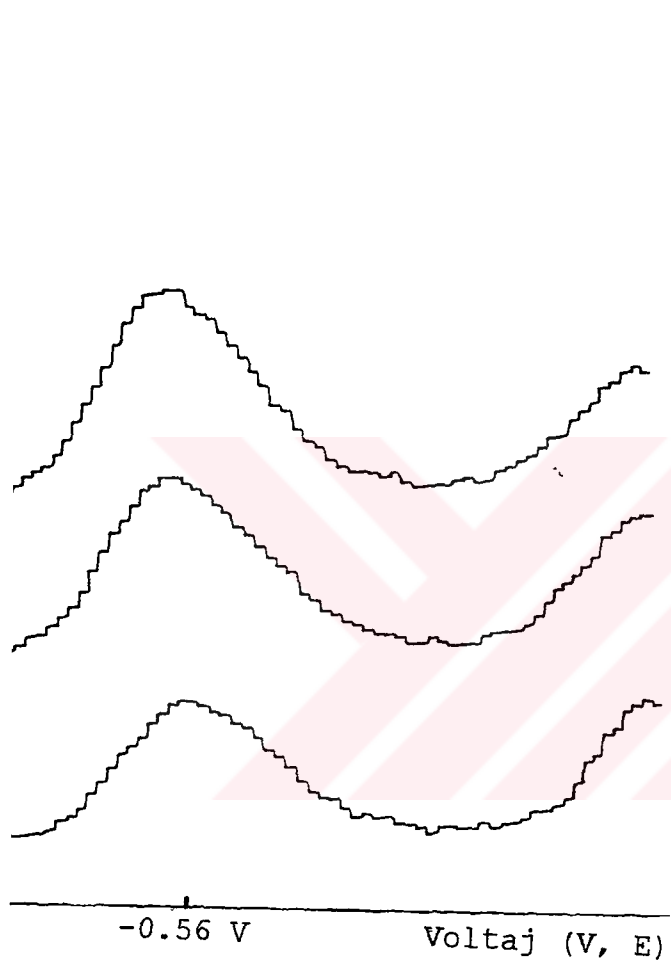
+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  31 nA  $\Delta = 6 \text{ nA}$   $\bar{x} = 7 \text{ nA}$

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  39 nA  $\Delta = 8 \text{ nA}$

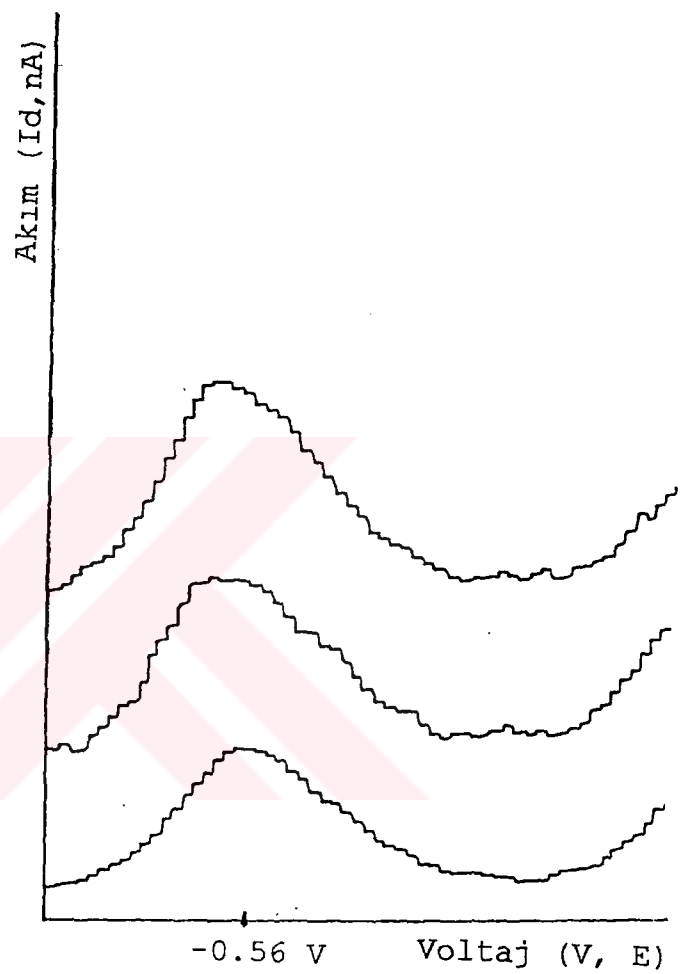
7 nA : 1  $\mu\text{g}$  = 25 nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 3.57 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_s = x = 7.14 \mu\text{g/ml NO}_2^-$$



Sekil 4.4.a



Sekil 4.4.b

## ÖRNEK 3

örnek : 14 nA (Şekil 4.5.a)

+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  29 nA  $\Delta = 15$  nA  $\bar{x} = 13$  nA

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  40 nA  $\Delta = 11$  nA

13 nA : 1  $\mu\text{g} = 14$  nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 1.0769 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_x = x = 2.154 \mu\text{g}/\text{ml NO}_2^-$$

örnek : 14 nA (Şekil 4.5.b)

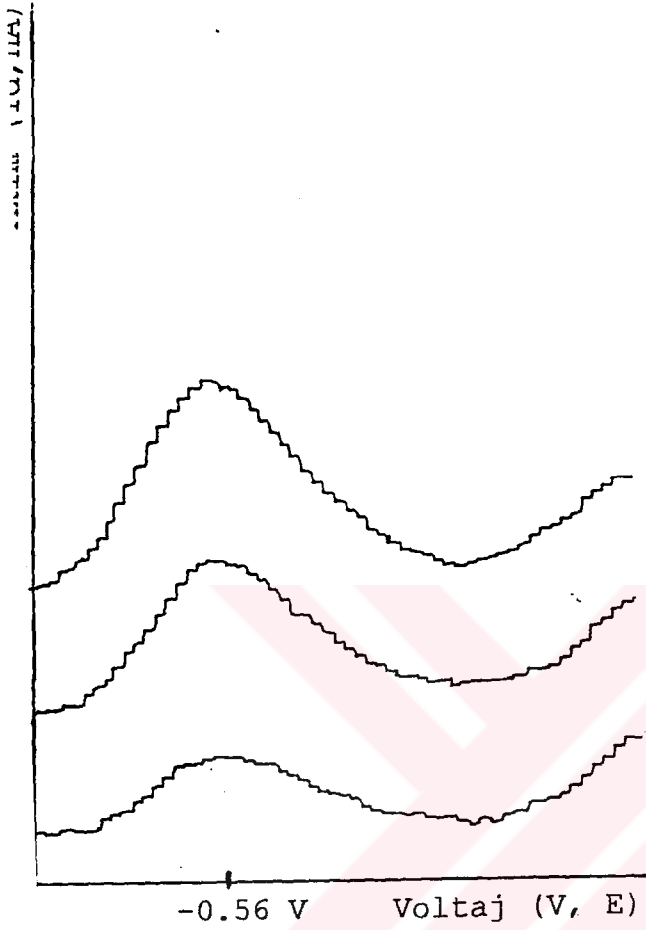
+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  28 nA  $\Delta = 14$  nA  $\bar{x} = 13$  nA

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  40 nA  $\Delta = 12$  nA

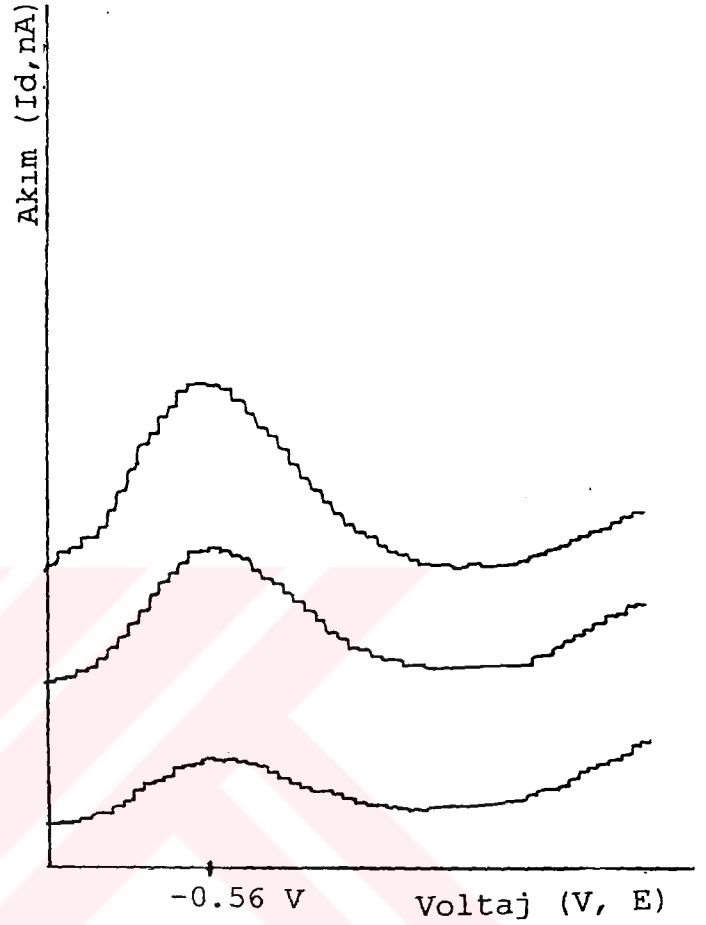
13 nA : 1  $\mu\text{g} = 14$  nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 1.0769 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_x = x = 2.154 \mu\text{g}/\text{ml NO}_2^-$$



Şekil 4.5.a



Şekil 4.5.b

## ÖRNEK 4

örnek : 23 nA (Şekil 4.6.a)

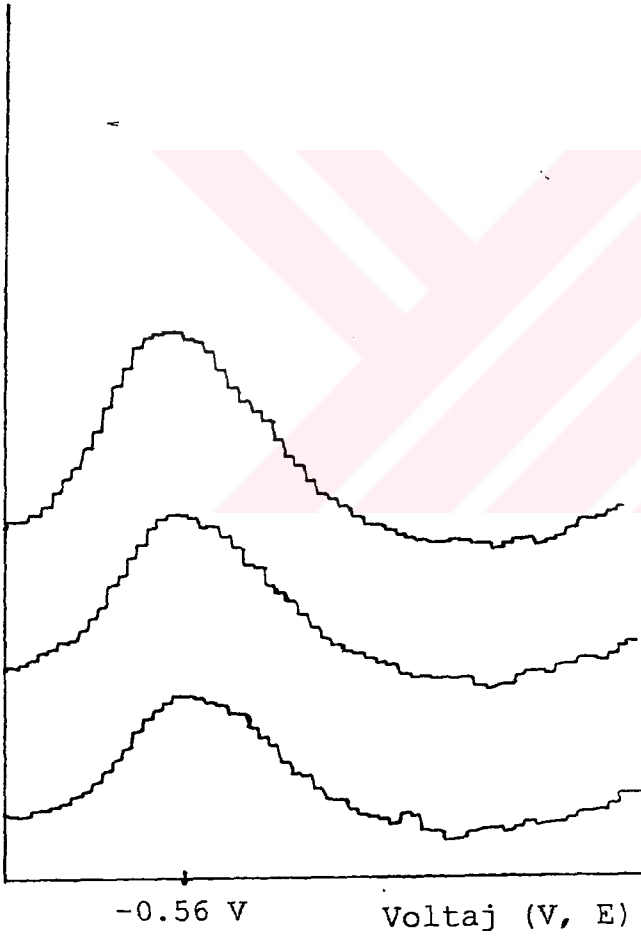
+ 1 $\mu\text{g NO}_2^-$	31 nA	$\Delta = 8 \text{ nA}$	$\bar{x} = 8 \text{ nA}$
+ 2 $\mu\text{g NO}_2^-$	39 nA	$\Delta = 8 \text{ nA}$	

$$8 \text{ nA} : 1 \mu\text{g} = 23 \text{ nA} : X \mu\text{g}$$

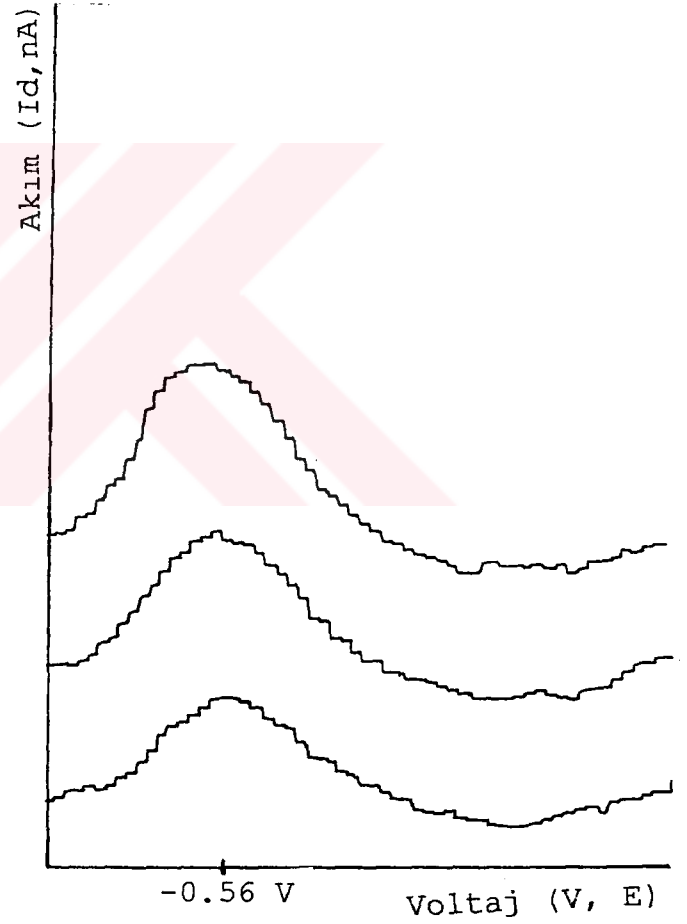
$$x = 2.875 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_s = x = 5.75 \mu\text{g/ml NO}_2^-$$

örnek : 23 nA (Şekil 4.6.b)  
 + 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  31 nA  $\Delta = 8 \text{ nA}$   $\bar{x} = 8 \text{ nA}$   
 + 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  39 nA  $\Delta = 8 \text{ nA}$   
 $10.5 \text{ nA} : 1 \mu\text{g} = 23 \text{ nA} : X \mu\text{g}$   
 $x = 2.875 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$   
 $C_x = x = 5.75 \mu\text{g}/\text{ml NO}_2^-$



Şekil 4.6.a



Şekil 4.6.b

## ÖRNEK 5

örnek : 55 nA (Şekil 4.7.a)

+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  60 nA  $\Delta = 5 \text{ nA}$   $\bar{x} = 11 \text{ nA}$

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  77 nA  $\Delta = 17 \text{ nA}$

11 nA : 1  $\mu\text{g}$  = 55 nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 5 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_s = x = 10 \mu\text{g/ml NO}_2^-$$

örnek : 55 nA (Şekil 4.7.b)

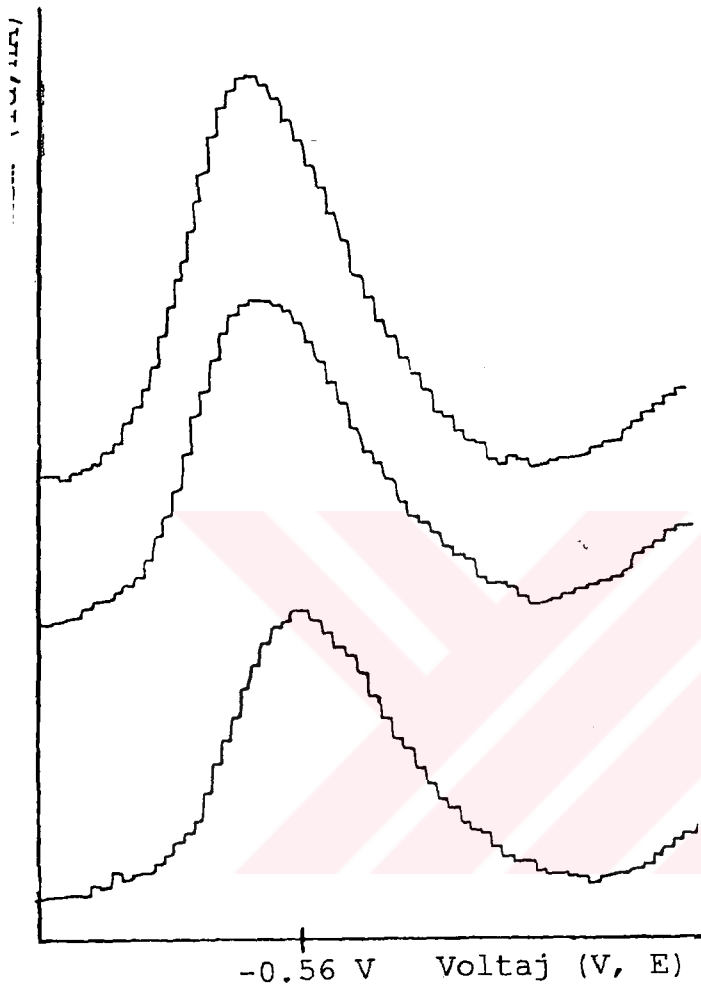
+ 1  $\mu\text{g NO}_2^-$  70 nA  $\Delta = 15 \text{ nA}$   $\bar{x} = 11 \text{ nA}$

+ 2  $\mu\text{g NO}_2^-$  77 nA  $\Delta = 7 \text{ nA}$

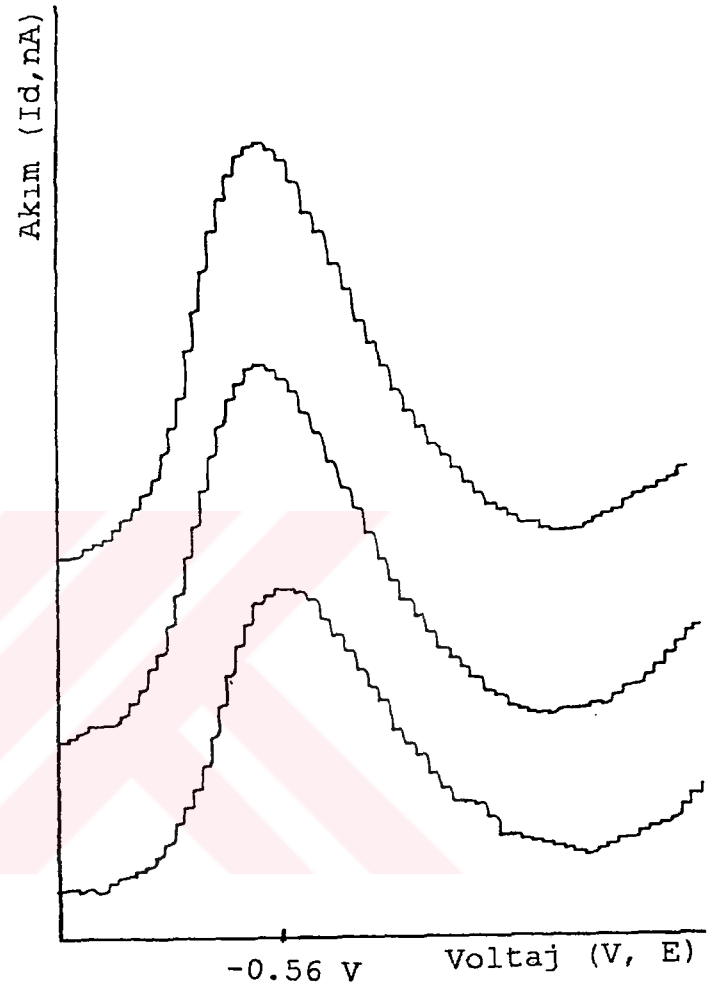
10.5 nA : 1  $\mu\text{g}$  = 55 nA : X  $\mu\text{g}$

$$x = 5 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$$

$$C_s = x = 10 \mu\text{g/ml NO}_2^-$$



Şekil 4.7.a



Şekil 4.7.b

## 5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında difenilaminin asitli ortamda nitrit iyonu ile difenilnitrozoamine dönüşmesine ve oluşan difenilnitrozoaminin polarografik olarak indirgenmesine dayanan diferansiyel puls polarografik tayin yöntemin polarografik optimum koşulları incelendi ve yöntemin insan tükürüğünde nitrit tayinine uygulandı.

Çalışmada ilk olarak 0.04 µg/ml nitrit iyonu içeren sulu çözeltiyle diferansiyel puls polarogramın optimum koşulları belirlendi. Daha sonra optimum koşullarda Bölüm 3.4.2. 'deki gibi çalışılarak sulu nitrit çözeltisiyle ölçü eğrisi hazırlandı. Yöntemin son çözeltide 0.02-0.1 µg/ml nitrit konsantrasyon aralığında belirlenen polarografik koşullarda doğrusal sonuç verdiği böylece belirlendi. Diferansiyel puls polarografik yöntem insan tükürüğünde nitrit tayinine uygulandı. Örnek biriktirilmesi uzunca bir zaman aldığından ve bekleme sonucu nitritin bozunma tehlikesi olduğundan ve ayrıca matriks etkisini gidermek için standart katma yöntemi

tercih edildi. Her bir örnekle iki kez standart katma yapılarak iki paralel çalışma gerçekleştirildi. Yöntem bu şekilde beş ayrı örneğe uygulandı.

Difenilaminin nitrozolanmasına dayanan reaksiyon diferansiyel puls polarografik nitrit tayini için duyarlı ve hızlı bir yönteme temel oluşturduğu çalışmamızda gösterilmiştir. Bu yöntemde analiz süreleri kısa olup gerekli belirteçler kolayca elde edilebilir niteliktedir ve toksisite-leri nispeten azdır. Ön işlem olarak sadece vakumda yapılan süzme işleminin olması bir avantaj olarak değerlendirildi. Bu yöntemin ; diyet ve diğer parametrelerin insan tükürüğündeki nitrit konsantrasyonu üzerindeki etkileri konusunda özellikle yararlı olduğu bildirilmektedir (Chang et al., 1977). Bizim yaptığımız çalışmada bu konuda daha ileri araştırmalara temel oluşturacak nitelikte görülmüştür.

**KAYNAKLAR**

Amin, D., Sulaiman, S.T. and Al-Abachi, M.Q., 1983. "Titrimetric and Polarographic Microdetermination of Nitrite by Amplification Reactions.", J.Indian Chem. Soc., 60 (10), 982-4. Ref. C.A. 1984, 101, 65167h.

Aycan, S., 1994. "Polarografik ve Voltametrik Teknikler.", Yıldız Teknik Üniversitesi Yayınları, İstanbul.

Buldini, P.L. and Ferri, B., 1984. "Differential Pulse Polarographic Determination of Nitrate and Nitrite in Nuclear Wastes.", Microchim. Acta., 1 (1-2), 43-51. Ref. C.A. 1984, 100, 93039r.

Cai, X., Li, P. and Zhao, Z., 1989. "Simultaneous Polarographic Determination of Nitrate and Nitrite in Environmental Water.", Fenxi Huaxue, 17 (7), 616-18., Ref. C.A. 1990, 112, 104465c.

Cai, X., Pei, J., Zhou, X. and Zhao, Z., 1991. "Single Sweep Polarographic Determination of Nitrite by Conversion to Formamidine Disulfide.", Anal.Sci., 7 (1), 109-13., Ref. C.A. 1991, 114, 156238s.

Chang, S.K., Kazeniauskas, R. and Harrington, G.W., 1977. "Determination of Nitrite Ion Using Differential Pulse Polarography.", Anal. Chem., 49, 14.

Chen, L. and Zi, V., 1992. "Methylene Blue for Determining Trace Nitrite by Polarography.", Huanjing Huaxue, 11 (5), 77-80., Ref. C.A. 1993, 118, 160095t.

Fiddler, W. and Pensabene, J.W., 1972, Nature, 236, 307. Ref. Wolf, I.A. and Wasserman, A.E., 1972. "Nitrates, Nitrites and Nitrosamines.", Science, 177, 15-19.

Fogg, A.G. and Alonso, R.M., 1988. "Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltametric Method for the Determination of Nitrite at ppb Levels After Diazotization of Aniline and Coupling With Azulene and its Modificitation for the Determination of Aromatic Amines.", Analyst, 113 (8), 1337-8. Ref. C.A. 1988, 109, 203993t.

Gündüz, T., 1988. "Instrümental Analiz", Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, Ankara : 389-420

Gao, Z., Wang, G. and Zhao, Z., 1990. "Determination of Trace Amounts of Nitrite by Single Sweep Polarography.", Anal.Chim. Acta., 230 (1), 105-12. Ref. C.A. 1990, 113, 34053m.

Gao, Z. and Zhao, Z., 1990. "Single Sweep Polarographic Determination of Nitrite in Cobalt(II)-thiocyanate Medium.", *Anal. Chim. Acta.*, 241 (1), 161-5. Ref. C.A. 1991, 114, 94325g

Gao, Z. and Zhao, Z., 1990. "Study on the Polarographic Adsorptive Wave of Nickel(II)-thiocyanate-Nitrite Complex and Its Application." *Fenxi Huaxue*, 18 (7), 623-7. Ref. C.A. 1991, 114, 16743c.

Huynh, C.H., Jacquet, J. and Silberzahn, P., 1969. "Determination of Nitrates and Nitrites by a Polarographic Method Using Superimposed Alternating Current.", *Ind. Aliment. Agr.*, 86 (11), 1439-43. Ref. C.A. 1970, 73, 13183u.

Hawksworth, G. and Hill, M. J., 1971, *Biochem. J.*, 122, 28 p. Ref. *Ibid.*

Holak, W. and Specchio, J.J., 1992. "Determination of Nitrite and Nitrate by Differential Pulse Polarography With Simultaneous Nitrogen Purging.", *Anal.Chem.*, 64 (11), 1313. Ref. C.A. 1992, 116, 234049p.

Jiang, Z., Lu, X., Chen, V. and Gao, X., 1989. "Polarographic Study on the Catalyzed Reduction of Nitrite by the Reduction Product of Molybdenum (VI).", *Beijing Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, 25 (2), 177-82. Ref. C.A. 1990, 113, 108279p.

Jiang, Z., Liang, A. and Dai, G., 1992. "Catalytic Reaction-Oscillopolarographic Method for the Determination of trace Amounts of Nitrite-Studies on the Nitrite-Bromate ( $\text{BrO}_3^-$ )-Methyl Red Catalytic System.", Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao, 13 (6), 759-61. Ref. C.A. 1992, 117, 76120u.

Liu, C., Chen, Y. and Chen, F.H., 1987. "Polarographic Determination of Nitrite in Water and Nitrogen Oxide in Air." Fenxi Huaxue, 15 (7), 640-2. Ref. C.A. 1987, 107, 249101n.

Lu, G. and Yao, S., 1989. "Determination of Nitrite by Single Sweep Polarography.", Anal. Lett., 22 (7), 1743-51. Ref. C.A. 1989, 111, 159869w.

Li, P., Zhao, Z. and Gao, Z., 1992. "Polarographic Studies and Measurements of Nitrite in Cobalt (II)-Thiocyanate-Ascorbic Acid Solution.", Electroanalysis (N.Y.), 4 (2), 199-206. Ref. C.A. 1992, 117, 19454g.

Metrohm Application Bulletin No.127/1 e.

Mo, J., Jin, D., Pei, J. and Zhao, Z., 1990. "Single Sweep Polarographic Determination of Trace Nitrite in Ferrous and Ascorbic Acid Medium.", Anal. Sci., 6 (2), 251-5. Ref. C.A. 1990, 113, 108332a.

Polak, j., Janacek, L. and Volke, J., 1989. "Determination of Nitrites by the Method of Differential Pulse Polarography After Previous Nitrosation of Difhenylamine.", Chem. Listy., 83 (7), 760-4. Ref. C.A. 1990, 112, 90789x.

Rooney, R.C., 1964., "Cathode Ray Polarography of Anions.", J. Polarog. Soc., 10(3), 49-54. Ref. C.A., 1965, 63, 9042g.

Senfontein, W.J. and Smith, J.H., 1967, Nature, 214, 169. Ref. Ibid.

Sulaiman, S.T. and AkRawi, B.A., 1984. "Differential-Pulse Polarographic Determination of Nitrite.", Analyst, 109 (12), 1545-7. Ref. C.A. 1985, 102, 89251c.

Serova, N.V. and Lukicheva, A.B., 1986. "Indirect Polarographic Determination of Nitrites in Acid Media.", Zh. Anal. Khim., 41 (7), 1209-11. Ref. C.A. 1986, 105, 126298h.

Sabharwal, S., 1990. "Determination of Nitrite Ion by Differential Pulse Polarography Using N-(1-naphtyl)ethylendi-amine.", Analyst, 115 (10), 105-7. Ref. C.A. 1990, 113, 223736x.

Scoog, D.A. and Leory, J.J., 1992. "Principles of Instrumental Analysis.", 4th. Ed., Sounders College Publishing New York. 550-62.

Wolf, I.A. and Wasserman, A.E., 1972. " Nitrates and Nitrosamines.", Science, 177, 15-19.

Wong, Y. and Li, K., 1990. Determination of Nitrite Based on the Diazo Reaction Determination of Nitrite by the 2.5th Order Differential Electroanalysis.", Fenxi Huaxue, 18 (1), 1-5. Ref. C.A. 1990, 113, 183819t.

Yukiharu, N. and Norihide, A., 1966. "Polarographic Determination of Nitrite in the Presence of Ascorbate.", Eiyo to Shokuryo, 19 (4), 282-5. Ref. C.A. 1967, 66, 91397m.

Yukiharu, N. and Norihide, A., 1967. "Simultaneous Polarographic Determination of Nitrite and Reduced Ascorbate.", Eiyo to Shokuryo, 19 (6), 424-8. Ref. C.A. 1967, 67, 20636y.

Zarebski, J., 1987. "Studies On Some Catalytic Systems by Polarographic and Voltametric Methods.", Chem. Anal. (Warsaw) 32 (1-2), 65-76. Ref. C.A. 1988, 109, 182597z.

Zhao, Z. and Cai, X., 1988. "Determination of Trace Nitrite by Catalytic Polarography in Ferrous Iron Thiocyanate Medium.", J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem., 252 (2), 361-70. Ref. C.A. 1989, 110, 87602j.

## **ÖZGEÇMİŞ**

**Doğum Tarihi : 23 Kasım 1970**

**Doğum Yeri : Akçadağ**

**İlkokul : 1976-1981, Bahçelievler İlkokulu**

**Ortaokul : 1981-1984, Yeşilyurt M.Adil Binal Ortaokulu**

**Lise : 1984-1987, Yeşilköy 50. Yıl Lisesi**

**Üniversite : 1987-1991, Yıldız Teknik Üniversitesi**

**Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü**

**Yüksek Lisans: 1993- , Yıldız Teknik Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Anorganik Kimya Programı**