

46949

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇEŞİTLİ MATERYALLERDE DİFERANSİYEL  
PULS POLAROGRAFİK YÖNTEMLE NİTRAT VE  
NİTRİT MİKTAR TAYİNİ**

**Kimyager FERİDE YILMAZ**

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

**hazırlanan**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sezen İSLİMYELİ**

**İstanbul, 1995**

	Sayfa No
<b>İÇİNDEKİLER</b>	I
<b>TEŞEKKÜR</b>	IV
<b>ÖZET</b>	VI
<b>ABSTRACT</b>	VIII
<b>1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI</b>	1
<b>2. GENEL BÖLÜM</b>	2
2.1. BESLENMEDEKİ NİTRAT VE NİTRİT KAYNAKLARI	2
2.2. NİTRAT VE NİTRİT İYONLARININ ZARARLARI	3
2.3. POLAROGRAFİ HAKKINDA GENEL BİLGİ	5
2.3.1. Giriş	5
2.3.2. Civa Damla Elektrot ( DME )	5
2.3.3. Polarogram	6
2.3.4. Polarografik Kantitatif Analiz	8
2.3.5. Polarografik Kalitatif Analiz	9
2.3.6. Polarografide İstenmeyen Olaylar	10
2.3.6.1. Oksijen Polarogramı	10
2.3.6.2. Polarografik Maksimumlar	11
2.3.6.3. Artık Akım	11
2.3.7. Yaygın Polarografik Teknikler	11
2.3.7.1. Puls ve Diferansiyel Puls Polarografisi	12
2.3.7.2. Alternatif Akım Polarografisi	14
2.3.7.3. Siklik Voltametri	15
<b>2.4. POLAROGRAFİK NİTRAT TAYİN YÖNTEMLERİ</b>	17
2.4.1. Direkt Polarografik Yöntemler	17
2.4.1.1. Uranil İyonu Eşliğinde Direkt Yöntemler	17
2.4.1.2. Diğer İyonlar Eşliğinde Direkt Yöntemler	19
2.4.1.3. Diğer Direkt Yöntemler	21
2.4.2. İndirekt Polarografik Yöntemler	22
2.4.2.1. Nitrofenoller Üzerinden İndirekt Tayinler	22
2.4.2.2. Difenil Nitrozamin Üzerinden İndirekt Tayin	25
2.4.2.3. Kadmiyum Üzerinden İndirekt Tayin	25
<b>2.5. İŞLENMİŞ ET ÜRÜNLERİNDE NİTRAT VE NİTRİT TAYİN YÖNTEMLERİ</b>	26

2.5.1.	Spektrofotometrik Tayin Yöntemleri	26
2.5.1.1.	Nitrofenoller Üzerinden Spektrofotometrik Yöntemler	26
2.5.1.2.	Diazolama-Kenetleme Reaksiyonuna Dayanan Spektrofotometrik Yöntemler	26
2.5.1.3.	Bakır(I) Neokuproin Kelatı İle İyon Çifti Üzerinden Spektrofotometrik Yöntem	27
2.5.2.	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Yöntem	27
2.5.3.	İyon Seçici Elektrotlarla Tayin Yöntemleri	27
2.5.4.	İyon Kromatografik Tayin Yöntemleri	28
2.5.5.	Polarografik Tayin Yöntemleri	28
2.6.	SEBZELERDE NİTRAT VE NİTRİT TAYİN YÖNTEMLERİ	29
2.6.1.	Spektrofotometrik Tayin Yöntemleri	29
2.6.1.1.	Nitrofenoller Üzerinden Spektrofotometrik Yöntemler	29
2.6.1.2.	Diazolama - Kenetleme Reaksiyonuna Dayanan Spektrofotometrik Yöntemler	29
2.6.2.	İyon Seçici Elektrotlarla Nitrat Tayin Yöntemleri	30
2.6.3.	İyon Kromatografik Nitrat Tayin Yöntemleri	31
3.	<b>DENEYSEL BÖLÜM</b>	32
3.1.	MADDELER VE ÇÖZÜCÜLER	32
3.2.	ÇÖZELTİLER	32
3.3.	GEREÇLER	33
3.4.	ÇALIŞMA YÖNTEMİ	33
3.4.1.	Nitrofenol Üzerinden Diferansiyel Puls Polarografik Yöntem	33
3.4.1.1.	Diferansiyel Puls Polarogram Koşulları	33
3.4.1.2.	Et Ürünleri İçin Standart Çözeltiler ve Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	34
3.4.1.3.	İşlem Görmüş Et Örneklerinin Çalışılması	35
3.4.2.	Kadmiyum Üzerinden Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Yöntem	35
3.4.2.1.	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Yönteminin Koşulları	35
3.4.2.2.	Ölçü Eğrisinin Hazırlanması	36
3.4.2.3.	Sebze Örneklerinin Çalışılması	37
4.	<b>SONUÇLAR</b>	38
4.1.	DİFERANSİYEL PULS POLAROGRAFİK TAYİN YÖNTEMİ	38

4.1.1.	Et Ürünleri İle Çalışma Koşulları	38
4.1.2.	Et Ürünleri İçin Ölçü Eğrisi	39
4.1.3.	Et Ürünü Örneklerinin Çalışılması	41
4.2.	ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROFOTOMETRİK TAYİN YÖNTEMİ	41
4.2.1.	Yöntemin Optimum Koşulları	41
4.2.2.	Ölçü Eğrisi	43
4.2.3.	Sebze Örneklerinin Çalışılması ve İstatistik Değerlendirme	45
5.	<b>TARTIŞMA</b>	48
	<b>KAYNAKLAR</b>	50
	<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	57



## **TEŞEKKÜR**

*Tezimin hazırlanması sırasında gerek bilgileri , gerekse tecrübeleri ile her zaman varlığını yanımda hissettiğim , bana yol gösteren hocam sayın Prof. Dr. Sezen İSLİMYELİ 'ne ; özellikle labaratuvar çalışmalarında yardım eden sayın Yrd. Doç. Dr. Mahmure ÜSTÜN ÖZGÜR 'e ; polarografi ile ilgili sunduğu alternatif kaynaklardan dolayı hocam Doç. Dr. Şule AYCAN 'a ; tezimin yazımında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Özer ve Betül ALİŐAN ile Atacom çalışanlarına ; bütün bu süreç zarfında varlıkları ile , ilgileri ile anlayışları ile bana manevi yardımları dokunan aileme ve dostlarıma bu vesile ile teşekkürü bir borç bilirim.*

*Feride YILMAZ*



**Bu çalışma Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. 93-A-01-02-02 proje numarası ile kayıtlıdır.**

## ÖZET

Bu tez çalışmasının ilk bölümünde nitrat ve nitrit iyonlarının kaynakları ve zararlı etkileri; direkt ve indirekt polarografik nitrat tayin yöntemleri ile işlem görmüş et ürünleri ile sebzelerde genel nitrat ve nitrit tayin yöntemlerinin bir dökümü yapıldı. Bu bölümde ayrıca polarografi hakkında genel bilgi verildi.

Çalışmanın ikinci bölümünde önce nitrat iyonunun derişik sülfürik asitli ortamda sıvı fenol ile oluşturduğu o-nitrofenolün polarografik olarak o-nitrozofenole indirgenmesine dayanan diferansiyel puls polarografik yöntemin optimum koşulları incelendi. Buna göre 50 µg / ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonu içeren sodyum nitrat çözeltisinin 1 ml 'si 25 ml 'lik balonjojeye aktarıldı. Üzerine sırasıyla 2 ml sıvı fenol ve 8 ml derişik sülfürik asit eklendi. Soğutulan karışım bidestile su ile hacmine tamamlandı ve polarografi kabına aktarıldı. 2.0 µg / ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonu içeren bu çözelti ile mümkün olan en yüksek hassasiyette çalışılarak diferansiyel puls polarogramın optimum koşulları belirlendi .

İşlem görmüş et ürünlerinde nitrat ve nitrit tayini için gerekli standart çözeltiler ; homojenize edilmiş dana etine sodyum nitrat kattıktan , proteinler amonyum alüminyum sülfat ile sıcakta çöktürüldükten sonra bidestile su ile gerekli seyreltmeler yapılarak hazırlandı. 20 - 100 µg / ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonu içeren bu çözeltilere 1 ml 'si ile çalışılarak diferansiyel puls polarogramları elde edildi ( n=5 ). -0.27 V 'ta saptanan maksimum difüzyon akımı değerlerinin ortalaması ile son nitrat konsantasyonları (0.8 - 4.0 µg/ ml ) arasında ölçü eğrisi hazırlandı. Regresyon analizi ile doğrunun denklemi  $\bar{I}d = 16.05c + 5.92$  ( r = 0.9990 ) olarak hesaplandı.

Nirat ve nitrit iyonlarının yanyana tayini için yukarıdaki şekilde çalışılarak nitrat iyonu saptandı. Daha sonra bir başka örnekte nitrit iyonu % 3,5 ' luk hidrojen peroksit ile nitrat iyonuna yükseltgenerek toplam nitrat iyonu saptandı. İki sonucun farkından nitrit miktarı hesaplandı.

Diferansiyel puls polarografik yöntem piyasadan alınan toplam dokuz adet işlenmiş et ürünü örneğinde nitrat ve nitrit iyonları tayinine uygulandı. Bu örneklerdeki sodyum nitrat ( mg / kg et ) ve sodyum nitrit ( mg / kg et ) miktarlarının - bir ürün dışında - yasal sınırlar içinde olduğu belirlendi.

Çalışmanın üçüncü bölümünde kadmiyum üzerinden indirekt atomik absorpsiyon spektrofotometrik nitrat tayin yönteminin optimum koşulları incelendi. Buna göre katı sodyum nitrat 0.1 N hidroklorik asitli ortamda metalik kadmiyum ile yarım saat CO<sub>2</sub> atmosferinde kaynatıldı. Açığa çıkan kadmiyum ( II ) iyonun atomik absorpsiyonu 228.8 nm 'de ölçülerek nitrat miktarına geçildi. Absorbans ve 0.362 - 1.810 µg/ ml kadmiyum ( 0.1 - 0.5 µg/ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ) konsantrasyonları arasında ölçü eğrisi hazırlandı. Regresyon analizi ile doğrunun denklemi  $A = 0.1771 c + 0.0135$  (  $r = 0.9999$  ) olarak hesaplandı.

Atomik absorpsiyon spektrofotometrik yöntem sebzelerde nitrat iyonu tayinine uygulandı. Sebze örneklerindeki nitrat miktarları ölçü eğrisinden ve ayrıca standart katma yöntemi ile hesaplandı. Bulunan sonuçlar istatistik olarak t testi ile karşılaştırıldı. Standart katma ve ölçü eğrisi yöntemi ile bulunan sonuçlar arasındaki farkın anlamlı olmadığı saptandı.



## ABSTRACT

In the first part of this thesis ; the sources and harmful effects of nitrate and nitrite ions ; direct and indirect polarographic nitrate determination methods in processed meat products and vegetables are reviewed. In this section a general information about polarography is also given.

In this second part of the thesis ; optimum conditions of the differential pulse polarographic method based on the polarographic reduction of o-nitrophenol , which is occurred by nitrate ion and liquid phenol in concentrated sulphuric acidic medium , to o-nitrosophenol were investigated. Accordingly ; 1 ml portion of sodium nitrate solution containing  $50 \mu\text{g} / \text{ml} \text{NO}_3^-$  ion was transferred into a 25 ml volumetric flask. 2 ml of liquid phenol and 8 ml of concentrated sulphuric acid were added respectively. After cooling , the mixture was diluted to the volume with double distilled water and transferred into the polarographic vessel. The differential pulse polarogram was obtained using this solution containing  $2.0 \mu\text{g} / \text{ml} \text{NO}_3^-$  ion and by working at the highest possible sensitivity. The optimum conditions of the polarogram were determined.

The standard solutions used at nitrate and nitrite determination in the processed meat products were prepared by adding sodium nitrate into the homogenized veal , precipitating its proteins with ammonium aluminium sulphate in hot and making the necessary pulse polarograms were double distilled water. The differential pulse polarograms were obtained by working with 1 ml portions of these solutions containing 20 - 100  $\mu\text{g} / \text{ml} \text{NO}_3^-$  ion ( n=5 ). A calibration graph was plotted between the mean of maximum diffusion current values determined at -0.27 V and nitrate concentrations (0.8 - 4.0  $\mu\text{g} / \text{ml}$  ). The linear equation of the calibration graph was calculated by regression analysis as  $\bar{I}_d = 16.05c + 5.92$  (  $r = 0.9990$  ).

For the simultaneous determination of nitrate and nitrite ions , the nitrate ion was determined by working as explained above. In another sample , the nitrite ion is oxidized to nitrate with 3.5 % hydrogen peroxide and the total nitrate ion is determined. The difference of the two determination gave the amount of nitrite ion.

The differential pulse polarographic method was applied to the determination of nitrate and nitrite ions in the nine samples of processed meat products purchased from the market. The amounts of sodium nitrate ( mg / kg meat ) and sodium nitrite ( mg / kg meat ) were found in legal limits , except one product.

In the third part of the thesis , optimum conditions of the indirect atomic absorption spectrophotometric determination method of nitrate via cadmium were investigated. Accordingly ; crystalline sodium nitrate was boiled half an hour in 0.1 N hydrochloric acidic medium with cadmium metal in CO<sub>2</sub> atmosphere. The nitrate content was calculated by measuring atomic absorbance of cadmium ( II ) ions released , at 228.8 nm. A calibration graph was plotted between absorbance and cadmium concentrations of 0.362 - 1.810 µg/ml ( 0.1 - 0.5 µg/ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ). The linear equation of the calibration graph was calculated by regression analysis as  $A = 0.1771 c + 0.0135$  (  $r = 0.9999$  ).

The atomic absorption spectrophotometric method was applied to the determination of nitrate ions in vegetables. Nitrate contents of the samples were calculated both from calibration graph and by standard addition method. The results obtained were compared statistically using the t test of significance . The differences between the results of the two methods were not found significant.

## 1. GİRİŞ VE ÇALIŞMANIN AMACI

Toprak , kayalıklar ve kullanılan gübrelerden çeşitli su kaynakları ile toprakla yakın temastaki sebzelere geçen nitrat iyonu fazla miktarda alındığında ve bakteriyolojik olarak nitrit iyonuna dönüşebildiği durumlarda insan ve çevre sağlığı yönünden sakıncalar oluşturmaktadır. Ayrıca bu iyonlar işlem görmüş et ürünlerinde katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır. Bu nedenle sözü edilen besin maddelerinde nitrat ve nitrit iyonları kontrolü önem taşımaktadır.

Bu çalışmada piyasada satılan çeşitli işlem görmüş et ürünlerine katılan nitrat ve nitrit iyonunun yasal sınırlar içinde olup olmadıklarının kontrolü ile çeşitli sebze ürünlerinde bulunan nitrat iyonlarının miktar tayini amaçlanmıştır.

Nitrat iyonu tayininde uygulanan yöntem , bu iyonun sulu çözeltide , derişik sülfürik asitli ortamda sıvı fenol ile oluşturduğu o-nitrofenolün  $-0.27$  V yarı dalga potansiyelinde verdiği polarogramlarının incelenmesine dayanan diferansiyel puls polarografik yöntemdir. Nitrit iyonu ise hidrojen peroksit ile nitrat iyonuna yükseltgendikten sonra aynı şekilde tayin edilmiştir. Yöntem , işlem görmüş et ürünlerinde nitrat ve nitrit ; çeşitli sebzelerde ise nitrat tayinine uygulanmıştır.

## **2. GENEL BÖLÜM**

### **2.1. BESLENMEDE NİTRAT VE NİTRİT KAYNAKLARI**

Besinlerden alınan nitratın en önemli kaynakları sebzeler ve nitratca zengin su kaynaklarıdır. Çeşitli su kaynakları , özellikle kuyu suları hayli yüksek miktarda nitrat iyonu içerebilmektedir. Bunun nedeni toprak ve kayalıklardan , kullanılan gübrelere süzülen nitrat iyonu ve biyolojik nitrifikasyondur. Nitrat iyonu ıspanak , kıvırcık , turp gibi toprakla yakın temastaki sebzelerde çok yüksek düzeylerde bulunabilmesine karşın meyvelerde daha az bulunmaktadır ( Wolff and Wasserman , 1972 ).

Diyetimizdeki asıl nitrat ve nitrit kaynağı önemli bir besin grubu olan işlem görmüş et ürünleridir. Çünkü bu ürünlere renk , tat ve antibakteriyel etki oluşturmak üzere belli oranlarda nitrat ve nitrit iyonları , hazırlanmaları sırasında katılmaktadır. İnsan organizmasında toksik etki göstermeleri nedeniyle bu iyonların işlenmiş et ürünlerine katılabileceği maksimum miktarlar saptanmış ve bu sınırlara uyulması gerektiği çeşitli ülkelerdeki resmi kuruluşlarca belirlenmiştir ( Gıda Maddeleri Tüzüğü , 1990 ). Bu sınırlar sodyum nitrat cinsinden sucuk gibi fermente et ürünlerinde 500 mg / kg et ;

salam, sosis gibi ısı işlemleri görmüş et ürünlerinde 300 mg / kg et ; sodyum nitrit cinsinden salam , sosis gibi ısı görmüş et ürünlerinde 150 mg / kg ettir.

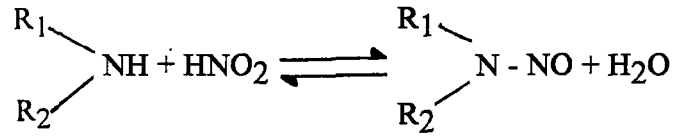
## 2.2. NİTRAT VE NİTRİT İYONLARININ ZARARLARI

Nitrat iyonu yiyeceklerde makul miktarlarda bulunduğu zehirli bir etki yapmamakta ve hızla idrarla atılmaktadır. Bu iyon ancak nitrit iyonuna dönüşebildiği koşullarda toksik etki yapabilmektedir. Yetişkinlerde mide asitliği çok yüksek olduğundan bu dönüşüme yol açacak bakteriyolojik ortam oluşmamaktadır. Oysa küçük çocuklarda daha az olan mide asitliği nedeniyle nitrat iyonunun nitrite dönüşümü daha kolay olmakta , buna bağlı zehirlenmelere de daha sık rastlanmaktadır. Benzer şekilde ıspanak da piştikten sonra oda sıcaklığında uzunca bekletildiğinde bakteriyolojik bir ortam oluşması nedeniyle nitrit zehirlenmelerine yol açabilmektedir. Bu nedenle günlük nitrit iyonu alımının kg vücut ağırlığı başına 0.4 mg 'ı aşmaması önerilmiştir.

Nitrit iyonunun toksik etkisi iki nedenle ortaya çıkmaktadır. Kesin olarak kanıtlanmış olan birinci nedene göre nitrit iyonu kan pigmenti olan hemoglobin ile methemoglobin oluşturmakta ve dolayısıyla methemoglobinemiye yol açmaktadır. Kandaki hemoglobin , içerdiği demir (II) iyonu ile kandaki oksijeni dokulara taşımak için gevşek yapıları oksihemoglobin kompleksi oluşturur.

Demir ( II ) iyonu , demir ( III ) 'e oksitlendiğinde hemoglobin oksijen taşıma yeteneğini kaybeder ve kahverenkli methemoglobin oluşur. Ortamda bulunan nitrit iyonu demir (II) 'nin demir ( III ) 'e oksidasyonuna neden olduğu için bu duruma yol açar. Methemoglobin kanda % 70 'in altındaki konsantrasyonlarda bulunduğu bu reaksiyon reversibl olduğu halde , daha yüksek konsantrasyonlarda boğulmaya neden olabilir.

Nitritin ikinci toksik etkisi vücutta bulunan aminlerle nitrozaminleri oluşturması ve bu bileşiklerin bazılarının kanserojen etki göstermesine dayanır ( Wolff and Wasserman , 1972 ).



İnsanlarda bu etki kesin ve tek bir kanser nedeni olarak somulaştırılmamışsa da , bu alandaki çalışmalar sürdürülmekte ve nitrozaminlerin oluşumuna neden olan nitrat ve nitrit iyonlarının diyetlerde olabildiğince azaltılması gerektiği vurgulanmaktadır. Normalde nitrozolanma sekonder aminlerde ortaya çıkmaktadır. Ancak yapılan araştırmalar sonucu , nitrozaminlerin yiyecek ve ilaçlarda mevcut tersiyer aminler ve katerner amonyum bileşiklerinden de oluştuğu ortaya çıkmıştır ( Fiddler and Pensabene,1972).

Nitrozolanma reaksiyonu kimyasal yolla veya mikroorganizmaların metabolik aktivitesi sonucu gerçekleşebilir. Nitrozolanma ; aminin bazikliği , pH , madde konsantrasyonu ve bazı anorganik iyonların varlığı gibi faktörlerden etkilenebilir. Örneğin insan tükürüğünde 12-33 mg / 100 ml seviyesinde bulunan ( sigara içenlerde daha yüksek ) tiyosiyanat , nitrozolanmanın hızını artırabilir.

Bunlardan başka sindirim sisteminde hazmedilen nitrit ve sekonder aminler , nitrozamin oluşumuna neden olabilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda , ince barsak mikroorganizmalarının üretildiği ortamlarda amin ve nitritten , nitrozamin oluştuğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca mide asiditesi daha az olan çocuklarda ve bazı yetişkinlerde nitrozamin oluşumu gözlenebilir ( Hawksworth and Hill , 1971 ).

Nitrozaminlere potansiyel oluşturan diğer kaynaklar ; çevresel faktörler , amince zengin tütün dumanı , yüksek dozda ve uzun süre alınan sekonder amin gruplu ilaç maddeleridir ( Serfontein and Smith , 1967 ).

## **2.3. POLAROGRAFİ HAKKINDA GENEL BİLGİ**

### **2.3.1. Giriş**

Bu bölümde yer alan polarografik yöntem ile ilgili bilgiler üç ayrı kaynaktan derlenerek hazırlanmıştır (Aycan , 1994 ; Gündüz , 1988 ; Skoog and Leary , 1992 ).

Voltametik yöntemlerin en önemlilerinden biri olan polarografi , elektroaktif maddelerin, polarize olabilen elektrotlarla çizilen akım - gerilim eğrilerini inceleyen elektrokimyasal bir analiz yöntemidir. Farklı türdeki elektrotlarla indirgenebilen ya da yükseltgenebilen anorganik veya organik maddeler bu yöntemle incelenebilirler.

Polarografik analiz , bir referans elektrot ile bir mikro çalışma elektrotunun uygun bir elektrolit içinde oluşturduğu redoks reaksiyonuna dayanır. Bu yöntemde iki elektrot arasına değişen bir voltaj uygulanır ve buna bağlı olarak akım şiddetinde oluşan değişim kaydedilir.

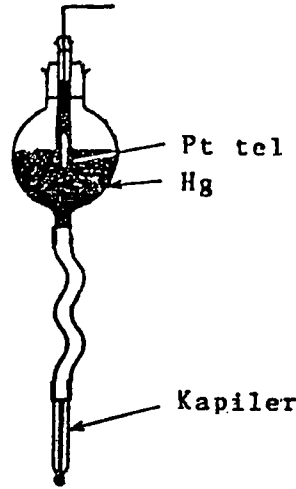
Polarografide çalışma elektrotu , polarize olabilen civa damla elektrotudur. Bu elektrot genellikle katot olarak görev yapar. Katotun polarize olması , üzerindeki potansiyel yükseltildiğinde akım şiddetinde bir değişiklik olmasıdır.

Bu elektrot elektroaktif maddenin , üzerinde reaksiyona uğradığı elektrotudur. Anot ise gerilimi daima sabit olan ve çözüldüğü maddelerin konsantrasyonundan etkilenmeyen yani polarize olmayan bir referans elektrotudur. Referans elektrot olarak genellikle gümüş / gümüş klorür ya da kalomel elektrot kullanılır.Yardımcı elektrot genellikle platin tel ya da camsı karbon elektrotudur.

### **2.3.2. Civa Damla Elektrot ( DME )**

Polarografik çalışmalarda ; damlayan civa , bir indikatör elektrot olarak etki eder ve tekrarlanabilir sonuçlar verir. Klasik bir DME , polietilen bir başlığa tutturulmuş , iç çapı 0.05 - 0.10 mm olan bir cam kapilerdir. Kapiler , bir plastik boru ile içinde civa

bulunan bir kaba bağlanmıştır (Şekil 2.1) . Bu kabın yüksekliği değiştirilebilir. Böylece civa basıncı ve DME ' nin damla ömrü kabın yukarı - aşağı hareketiyle ayarlanabilir.



**Şekil 2.1. Civa Damla Elektrot (DME)**

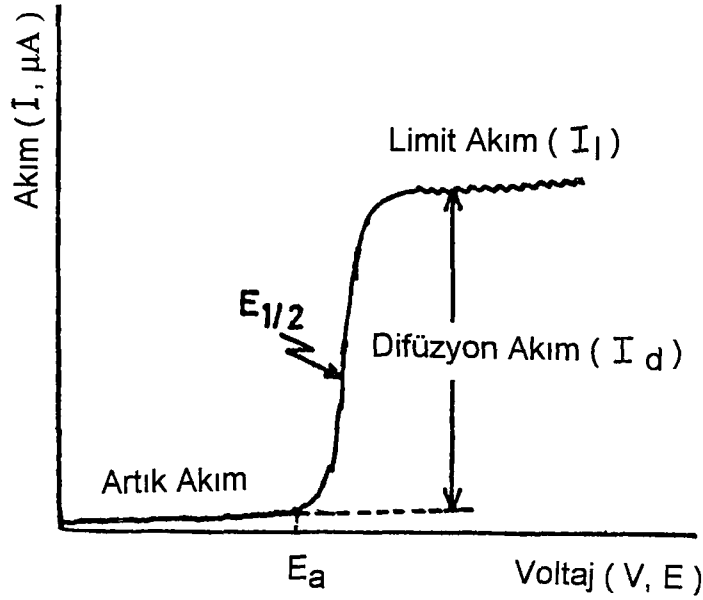
Polarografide DME kullanmanın çeşitli üstünlükleri vardır. Bunlar şöyle sıralanabilir:

- Saf civanın düzenli akışı , elektrokimyasal prosesin daima taze yüzeyde oluşmasını sağlar. Böylece genel olarak tekrarlanabilir sonuçlar alınır. Yüzeyin sürekli yenilenmesi , akımın elektroliz süresinden bağımsız olmasını sağlar.
- Civanın yüksek hidrojen aşırı gerilimi ( yaklaşık 1 V ) hidrojen çıkışının engelleyici etkisi olmadan negatif potansiyellere ulaşmaya olanak sağlar.
- Yüzeyin sürekli yenilenmesi sonucu pasifleşme ve yüzey zehirlenmesi söz konusu değildir.

### 2.3.3. Polarogram

Polarografi hücresinde uygulanan potansiyele karşı hücreden geçen akım şiddetinin kaydedildiği grafiğe polarogram denir ( Şekil 2.2 ).





**Şekil 2.2. Doğru Akım Polarogramı**

Polarografik analiz çoğunlukla katot olarak kullanılan analiz çözeltilisine daldırılmış civa damla elektrotunda gerçekleşir. Potansiyel daha çok doğru akım (DC) olarak verilir. Bundan başka alternatif akım (AC), değişik pulsler ve kare dalgalar kullanılabilir.

Polarografi kabında voltajın artırılması ile önce devreden sabit ve küçük bir akım geçer. Ayrışma potansiyeline kadar devam eden bu akıma artık akım denir. Ayrışma potansiyeli ( $E_a$ ); incelenen maddenin yeterli bir hızla elektroliz edilebilmesi için gerekli en düşük potansiyeli gösterir. Bu değer konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir.

Limit akım, iyonların elektrota tamamen difüzlendiği akım olup, bundan sonra potansiyel ne kadar artırılırsa artırılın akım şiddetinde bir değişme olmamaktadır. Limit akım ile artık akım arasındaki akım farkına ise difüzyon akımı ( $I_d$ ) denir. Difüzyon akımı maddenin konsantrasyonuna bağlı olarak değişen bir parametredir. Bu akımın S eğrisindeki orta noktasına karşılık gelen potansiyel miktarına ise yarı dalga potansiyeli ( $E_{1/2}$ ) denir. Her maddenin, belirli bir destek elektroliti içinde, konsantrasyonuna bağlı olamayan bir yarı dalga potansiyel değeri vardır. Örneğin 0.1M potasyum klorür içinde  $Cd^{2+}$  nın yarı dalga potansiyeli bütün konsantrasyonlarda -0.60 V dur. Destek elektroliti değişince yarı dalga potansiyeli de değişir. Çözeltiye,

incelenen madde konsantrasyonunun yaklaşık yüz katı derişiklikte ilave edilen ve taşıyıcı elektrolit te denilen destek elektrolitinin görevi , akımın sadece difüzyon yolu ile geçmesini sağlayıp , iyonların hareketlerinden oluşan migrasyon akımını yok etmektir. Böylece çözeltide elektriğin iletilmesi görevini bu katılan tuzun iyonları yüklenmiş olur.

Destek elektrolit olarak sulu çözeltilerdeki polarografik çalışmalarda potasyum klorür , sodyum nitrat , potasyum nitrat , sodyum perklorat gibi tuzların çözeltileri ; sudan başka çözücülerin kullanıldığı çalışmalarda ise , tetraalkil amonyum tuzları ya da lityum perklorat kullanılır. Tampon çözeltiler yada asit çözeltileri ile çalışıldığında ayrıca destek elektroliti kullanmaya gerek kalmaz.

Polarogramda dalga yüksekliğini oluşturan limit akım (  $I_l$  ) ; difüzyon akımı , migrasyon akımı ve konveksiyon akımlarının toplamıdır. Konveksiyon akımı çözeltinin fiziksel özelliklerinden kaynaklanan bir akım olup , çözelti karıştırılmazsa etkisi giderilmiş olur. Destek elektroliti ilavesiyle de migrasyon akımının etkisi giderilebildiğinden , bu koşullarda limit akımın büyüklüğü , difüzyon akımına eşit olmaktadır.

#### 2.3.4. Polarografik Kantitatif Analiz

Çalışma elektrotu , referans elektrot ve yardımcı elektrottan kurulu üçlü elektrot sistemiyle bir elektrolitin elektrolizinde bir limit akıma varılması kantitatif analizin temelini oluşturur. Polarografik kantitatif yönteminin esas koşulu  $I_d$  difüzyon akımının , iyonun c konsantrasyonu ile orantılı olmasına dayanır. İlkoviç denklemi olarak bilinen bu ifade

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

şeklindedir. Sabit değerlerin tümü k İlkoviç sabiti olarak birarada toplamak suretiyle denklem

$$I_d = k c$$

şeklinde gösterilebilir.

- $I_d$  : 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 (  $mM$  )

Bu esasa dayanarak bilinmeyen madde konsantrasyonu , ölçü eğrisi yöntemi , standart örnek ya da standart katma yöntemlerinden birisi ile saptanabilir .

### 2.3.5. Polarografik Kalitatif Analiz

Yarı dalga potansiyeli genellikle elektroaktif türlerin konsantrasyonundan yani difüzyon akımdan bağımsızdır. Bu nedenle polarografik kalitatif analizin esası , yarı dalga potansiyeline dayanmaktadır.

Polarogram üzerinde herhangi bir noktadaki potansiyel Nerst eşitliğinden çıkarılmıştır.

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{I_d - I}{I}$$

Yarı dalga potansiyeli ile akım şiddeti arasındaki bağıntıyı gösteren bu eşitliğe polarografik dalga denklemi denir.

Kalitatif amaçlı polarografik ölçümlerde iyonların yarı dalga potansiyelinden yararlanılır. Çünkü her iyonun kendine özgü bir yarı dalga potansiyeli vardır ve ayrışma potansiyeli konsantrasyona bağlı olduğu halde , yarı dalga potansiyeli konsantrasyona bağlı değildir .

Yarı dalga potansiyelinden başka , dalga şekli , dalga cinsi ve destek elektrolitin ya da diğer deneysel değişkenlerin değişiminden etkilenme gibi karakteristiklerin ölçülerek tablolarla karşılaştırma yapılması da kalitatif analizi tamamlamaktadır.

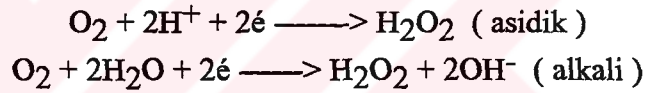
### 2.3.6. Polarografide İstenmeyen Olaylar

#### 2.3.6.1. Oksijen Polarogramı

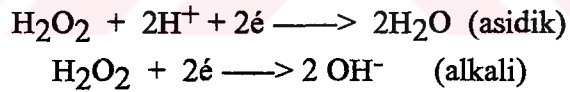
Normal koşullarda hava ile dengede bulunan bir çözeltildeki oksijen konsantrasyonu  $2 \times 10^{-4}$  molardır.

Bu konsantrasyondaki oksijen oldukça belirgin bir polarogram verir. Çünkü çözülmüş olan bu oksijen civa damla elektrotunda kolayca indirgenir . İndirgenme iki basamakta olur.

Birinci basamak :



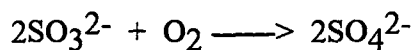
İkinci basamak :



Oksijenin geniş bir aralıkta polarografik iki dalga vermesi değişik çözücülerdeki ya da gaz karışımlarındaki oksijenin saptanmasını sağlar ; ancak diğer analizleri engeller. Bu nedenle analizde istenmez ve ortamdan uzaklaştırılması istenir.

Bu amaçla maddenin çözeltisinden inert gazlar , en çok da azot gazı geçirilir. Çözeltiden beş - on dakika azot gazı geçirildikten sonra azot atmosferinde polarogram kaydedilir.

Polarogramı alınacak çözelti nötral veya bazik ise , azot gazı yerine , ortama sodyum sülfid ilave edip bir süre bekleyerek de oksijen uzaklaştırılabilir. Bekleme süresinde :



reaksiyonu olur ve oksijen indirgenir. Asidik ortamda sülfid indirgenmediğinden bu amaçla kullanılamaz.

### 2.3.6.2. Polarografik Maksimumlar

İdeal polarografik dalga düzgün S eğrisi şeklinde bir eğridir ve yarı dalga potansiyeline göre simetriktir. Ancak çoğu kez akım - voltaj eğrisi S şekli yerine , limit akımın başlangıcında bir maksimum gösterir. Bu durum limit akımın saptanmasında güçlük çıkartır. Maksimum nedeni olarak öne sürülen iki görüşten ilkinde göre maksimumlar , indirgen iyonların civa damlası tarafından adsorplanmasına dayandırılır. Böylece damlada konsantrasyon artar ve dolayısıyla daha fazla bir difüzyon akımı oluşur. İkinci görüş ise civa damlası civarında çözeltilinin hızlı hareketine dayandırılır. Bu hareket elektrot yüzeyinde konsantrasyonu artırır.

Polarografik maksimumdan kurtulmak için ortama küçük miktarlarda yüzey aktif maddeler katılır. Bunlar metil kırmızısı ,  $\alpha$ -naftol , jelatin , fuksin vb.' dir. Maksimum gidericiler civa damlası yüzeyinde adsorplanır ve elektrot yüzeyine çözeltilinin hareketini önler ya da geçiktirir.

### 2.3.6.3. Artık Akım

Yöntemin duyarlılığını artırmak için , artık akımın en aza indirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla :

- a) Destek elektroliti ve civa olabildiğince saflaştırılarak artık akım azaltılır.
- b) Çözeltideki çözülmüş oksijenin iyice uzaklaşması sağlanır.

### 2.3.7. Yaygın Polarografik Teknikler

Buraya kadar anlatılmış olan klasik doğru akım polarografi tekniği dışında daha sonra geliştirilen tekniklerden en yaygın olarak kullanılanları alternatif akım (AC) , puls (P) , difransiyel puls (DP) , polarografik ve siklik voltametik (CV) tekniklerdir.

### 2.3.7.1. Puls ve Diferansiyel Puls Polarografisi

Klasik polarografi  $10^{-2}$  -  $10^{-5}$  M konsantrasyon aralığında kullanılır. Çünkü daha düşük konsantrasyonlarda kapasitif akım ( artık akım ) faradik akıma göre oldukça büyüktür. Bu sakıncayı gidermek için puls ve diferansiyel puls polarografik yöntemler geliştirilmiştir.

Puls polarografide devamlı artan bir voltaj değil , damla ömrünün son kısmında tek bir dikdörtgen voltaj pulsu elektrota gönderilir. Böylece damla ömrünün ilk kısmındaki artık akım değişimleri önlenmiş olur.

Puls polarografi tekniği iki şekilde uygulanabilir.

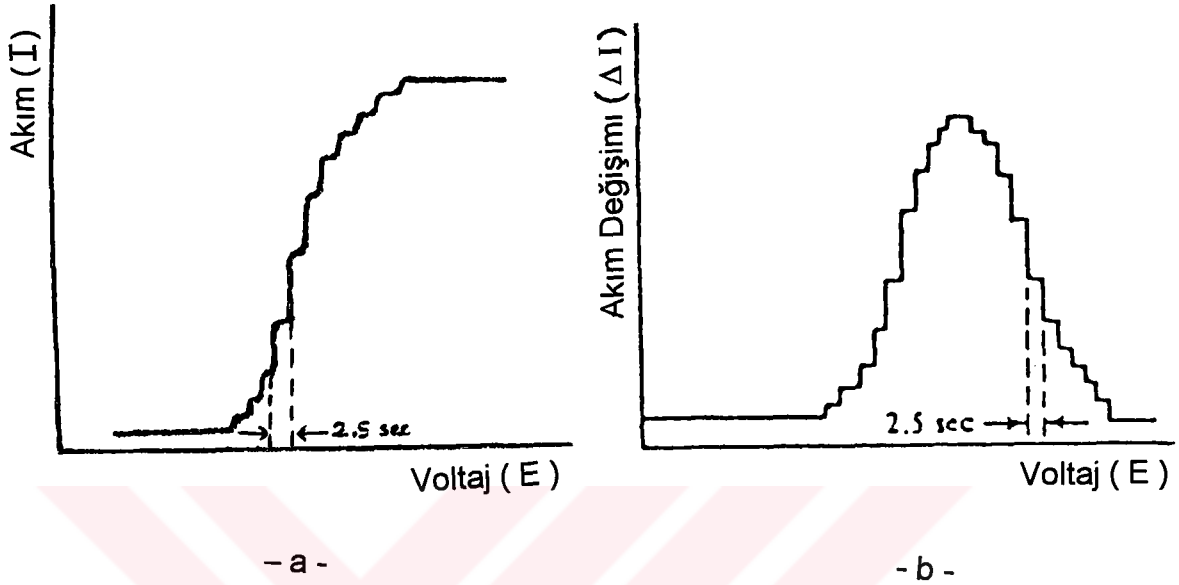
- a) Puls Polarografisi : Voltaj pulsunun artan genliği kullanılır.
- b) Diferansiyel Puls Polarografisi : Yavaşça artan voltaj üzerine bindirilmiş sabit genlikteki voltaj pulsu kullanılır.

Puls polarografide yaklaşık 40 ms sürelik kare dalga voltaj pulsu damla ömrünün son çeyreğinde elektrota uygulanır. Bu anda çok büyük olan kapasitif akım hızla azalır ve pulsun ikinci yarısında akım ölçülür. Uygulanan voltaj pulsunun genliği zamanla artar. Akımdaki değişiklik , voltaj değişikliğine karşı grafik edildiğinde doğru akım polarogramına benzer bir şekilde S eğrisi elde edilir ( Şekil 2.3.a ). Ancak bu eğride damla ömürlerini gösteren basamaklar vardır.

Puls polarografisi , klasik doğru akım polarografisinden altı , yedi kez daha iyi sonuç verir. Puls tekniği DME yerine katı elektrotlarla gerçekleştirilirse Puls Voltametri adını alır.

Diferansiyel puls polarografide ise puls polarografisinden farklı olarak kullanılan pulsun genliği sabittir ve 50-100 mV arasındadır. Bu puls , yavaşça doğrusal olarak artan bir voltaj üzerine bindirilmiştir. Burada biri pulstan hemen önce , diğeri pulsun sonuna doğru iki ölçme periyodu kullanılır. Grafikte voltaja karşı kaydedilen akım değeri, bu iki akım arasındaki farktır. Bu nedenle ortaya çıkan akım-voltaj eğrisi S

şeklinde değil , pik şeklinde ortaya çıkar ( Şekil 2.3.b ). Bu yöntemde akım yerine , akım farkının ölçülmesiyle kapasitif akımın etkisi azaltılır.



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

Diferansiyel puls polarografisindeki pikin yüksekliği , reversibl sistemler için konsantrasyonla orantılıdır.

$$i_p = \frac{nF A D^{1/2} c [ \exp ( nF \Delta E / 2RT ) - 1 ]}{\pi^{1/2} t^{1/2} [ \exp ( nF \Delta E / 2RT ) + 1 ]}$$

Burada  $\Delta E$  , katodik bir puls için pozitif , anodik bir puls için negatif olarak dikkate alınır. Pulsun genliği arttırıldıkça daha düşük konsantrasyonlar saptanabilir. Fakat bu durumda yanyana piklerin ayrılması zorlaşır. Polarogramda tek bir pik varsa ya da birden fazla pikler birbirlerinden yeterince uzak ise , maksimum hassasiyet elde edebilmek için potansiyel pulsu 50-100 mV olabilir. Polarogramda birbirine yakın iki yada daha fazla pik varsa , iyi sonuç alabilmek için puls genliği 5-10 mV olmalıdır.

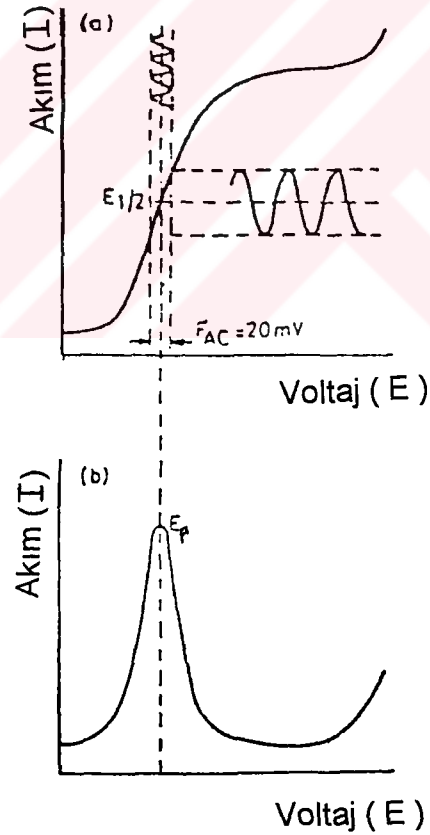
Her iki puls tekniğinde de uygulanan pulsların frekansları ile civa damla elektrotun damla ömrünün senkronize olması gerekir.

Puls polarografisinin tayin sınırı  $10^{-7}$  M , diferansiyel puls polarografisinin tayin sınırı ise  $10^{-8}$  M mertebesindedir.

### 2.3.7.2. Alternatif Akım Polarografisi

Bu teknikte doğrusal olarak değişen bir potansiyel üzerine düşük frekanslı bir alternatif akım uygulanır. Genelde uygulanan alternatif potansiyelin genliği 5-50 mV , frekansı 10-100 Hz değerleri arasında değişir.

Alternatif akım polarogramı , doğru akım potansiyeline karşı temel harmonik alternatif akımın grafiğidir. Bu grafik reversibl bir dalga için doğru akım polarogramının artan kısmına uygun pik şeklinde bir eğridir. Reversibl bir redoks reaksiyonu için pik simetriktr (Şekil 2.4 ).



**Şekil 2.4. Alternatif Akım Polarogramı ve Doğru Akım Polarogramı İle İlişkisi**



Pik yüksekliği ( $\dot{I}_p$ ) elektroaktif türlerin konsantrasyonu ve frekansın karakökü ile orantılıdır.

$$\dot{I}_p = kn^2 AD^{1/2} f^{1/2} vc$$

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 madde konsantrasyonundan bağımsızdır.

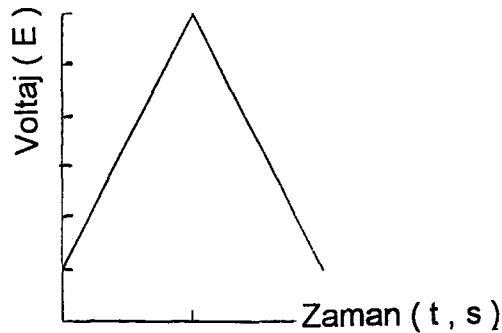
Yarı reversibl sistemlerde pik potansiyeli alternatif akım frekansı ile değişir. Fakat daha düşük frekansta yarı dalga potansiyeli  $E_{1/2}$  'ye yaklaşır. Burada gözlenen hassasiyet , reversibl bir işleminkinden daha düşük olduğundan , bu dalgalar analitik amaçlar için yararlı değildir.

İrreversibl olaylara ilişkin dalgalar geniştir. Bir irreversibl dalganın pik potansiyel değeri , doğru akım yarı dalga potansiyelinden daha negatif değere kayar.

AC polarografinin hassasiyeti  $10^{-6}$  M' dir.

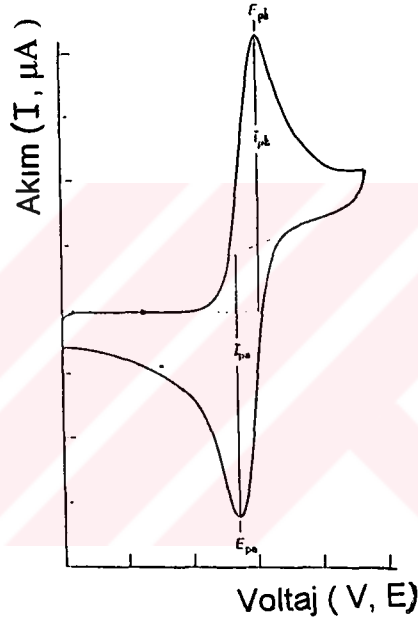
### 2.3.7.3. Siklik Voltametri

Siklik voltametri çok yönlü ve yararlı bir teknik olup redoks reaksiyonlarının mekanizmasını incelemede ideal bir yöntemdir. Siklik voltametrde, karıştırılmayan bir çözeltideki küçük, durgun bir elektroda üçgen dalga şeklinde potansiyel uygulanır (Şekil 2.5 ).



Şekil 2.5. Siklik Voltametrde Uyarma Sinyali

Bir siklik voltamogramdaki önemli parametreler pik potansiyeli (  $E_{pk}$  ,  $E_{pa}$  ) ve pik yüksekliğidir (  $I_{pk}$  ,  $I_{pa}$  ) (Şekil 2.6). Reversibl bir elektrot reaksiyonu için anodik ve katodik pik akımları yaklaşık olarak eşittir ve pik potansiyelleri arasındaki fark  $0.059/n$  V 'dur (  $25^\circ$  C için ). Potansiyel tarama hızı (v) artırıldığında anodik ve katodik akımlar  $v^{1/2}$  ile orantılı olarak artar. Reversibl bir sistem için  $v^{1/2}$  'ye karşı  $I_{pa}$  ya da  $I_{pk}$  değişimi doğrusaldır. Kinetik karmaşıklıklar olmadığı zaman reversibl bir sistem için  $I_{pa}/I_{pk} = 1$  ve tarama hızından bağımsızdır. Siklik voltametri ile pik potansiyelleri yeterince yakın maddeler yanyana saptanabilirler.



**Şekil 2.6. Siklik Voltamogramı**

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

$$E_{pa} - E_{pk} = \frac{2.22 R T}{n F} = \frac{5.70}{n} \text{ (mV)}$$

eşliği ile bulunur. İrreversibl reaksiyonlarda anodik ve katodik pik akımları ayrılmaya başlar. İrreversibilite sınırında , yani oksidasyon çok yavaş olduğunda pik görülmez.

Siklik voltametri de en çok kullanılan elektrotlar platin , karbon , altın ve civadır. Siklik voltametri de potansiyelin hızlı taranması ile 1  $\mu$ s 'den daha kısa ömürlü türlerin incelenmesi olasıdır.

## 2.4. POLAROGRAFİK NİTRAT TAYİN YÖNTEMLERİ

### 2.4.1. Direkt Polarografik Yöntemler

Nitrat iyonun bazı polivalent katyonların varlığında civa damla elektrot üzerindeki redüksiyonu ilk olarak Tokuoka (1932) ve Tokuoka ile Ruzicka (1934) tarafından incelenmiştir. Bu araştırmacılar lantan (III) iyonu aşırısının varlığında nitrat difüzyon akımının , nitrat konsantrasyonu ile orantılı olarak arttığını gözlemlemişlerdir. Bu gözlem esas alınarak daha sonra çeşitli polarografik nitrat tayin yöntemleri geliştirilmiştir. Nitrata bağlı polarografik akımlar iterbium (III) , lantan (III) , seryum (III) , neodyum (III) , zirkonyum (IV) , molibden (V) ve en çok da uranil (VI) iyonlarının varlığında gözlenmektedir ( Boese et al.,1977). Bu metal iyonlarının varlığındaki nitrat polarografik akımlarına dayanan analitik yöntemler genelde komplike reaksiyon mekanizmaları ve belirgin bir pH bağımlılığı ile karakterize edilirler.

#### 2.4.1.1. Uranil İyonu Eşliğinde Direkt Yöntemler

Kolthoff ve arkadaşları ( 1944 ) nitrat konsantrasyonu ve difüzyon akımı arasındaki orantının yalnızca düşük nitrat konsantrasyon aralığında geçerli olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmacılar nitrat iyonunun az miktarda uranil iyonu eşliğinde civa damla elektrot üzerinde indirgenliğini ve nitrat dalgasının lantan (III) eşliğinde olduğundan daha düzgün görünümde ve daha pozitif potansiyelde bulunduğunu , ayrıca diğer anyonlarla daha az girişim yaptığını gözlemlemişlerdir. Bu yöntemde uranil iyonunun seyreltik hidroklorik asitli ortamda simultene olarak indirgenmesi , nitrat iyonunun indirgenmesini katalize etmektedir. İlk uranil dalgası uranil (VI) ' nın uranil (V) 'e , ikinci dalga ise uranil (V)' in uranil (III) ' e indirgenmesine karşı gelmektedir. Katalitik nitrat dalgası , ikinci uranil dalgası ile aynı potansiyelde oluşmaktadır. Kataliz

mekanizması hayli komplike olup , elektrot yüzeyinde oluşan uranil (III) ' ün gerçek nitrat indirgeyici ajan olduğu düşünülmüştür.

Daha sonra aynı esasa dayanarak nitrit ve nitrat iyonları yanyana polarografik olarak tayin edilmiştir (Keilin and Otvos , 1946). Asidik ortamda nitrit ve nitrat iyonları aynı potansiyelde dalga verdikleri için , tayinin yapıldığı asitli koşullarda nitrit iyonundan oluşan nitroz asitin bozundurulmasından sonra nitrat tayini yapılmış ; ayrı bir örnekte nitrit iyonu hidrojen peroksit ile yükseltgenerek toplam nitrat miktarı yapılmış ve aradaki farktan nitrit miktarına geçilmiştir.

Aynı yöntem beslenme çözeltilerinde toplam nitrat ve nitrit kontrolü için kullanılmıştır ( Malingerova , 1959 ). Uranil asetat destek elektroliti ile hidroklorik asitli ortamda nitroz asitin bozunmasını önlemek üzere azot gazı geçirilip nitrat ve nitritin toplam tayini gerçekleştirilmiş , nitrit iyonu daha sonra üre katılmak suretiyle elimine edilerek nitrat tayin edilmiş , aradaki farktan nitrit miktarına geçilmiştir. Toplam difüzyon akımı , kalomel elektrotu karşı -1.0 V yarı dalga potansiyelinde ölçülmüştür. Bu yöntem toprakta nitrat tayini için de uygulanmıştır ( Kurkaev et al ., 1972) . Bu çalışmada klor - civa elektrotu ve elektrolit olarak ta Pletich Krzyzova çözeltisi (0 .1 M potasyum klorür , 0.1 M hidroklorik asit ve 0.0002 M uranil asetat ) kullanılmıştır. Bir başka çalışmada , nükleer atıklarda uranil iyonu eşliğinde nitrat ve nitrit iyonları toplamının tayini için gümüş/ gümüş klorür elektrotu karşı - 0.93 V 'da diferansiyel puls polarografik yöntem uygulanmıştır (Buldini et al., 1984 ). Aynı karışımda nitrit iyonu difenil aminin nitrozolanmasına dayanan indirekt diferansiyel puls polarografik yöntemle tayin edilmiş , aradaki farktan nitrat iyonuna geçilmiştir.

Uranil iyonu eşliğinde uygulanan bir başka direkt yöntem ise nehir suyu , taze kar ve hayvan yemi gibi çevresel materyallerde nitrat tayini için kullanılmıştır ( Hemmi et al ., 1984). Bu çalışmada nitrat ve uranil iyonu arasındaki katalitik reaksiyon diferansiyel puls polarografik olarak yeniden incelenmiş ve nitrat iyonunun tayininde en uygun ve en etkin koşullar belirlenmiştir. Buna göre uranil konsantrasyonu 100  $\mu$ M olduğunda , klorür konsantrasyonu 0.1 M 'ın ve sülfat konsantrasyonu 5 mM 'ın altında olduğunda optimum sonuçlar elde edilmiştir. Nitrit ve fosforik asitin yöntemle girişim yaptığı , sağlıklı bir sonuç için bunların elimine edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Ağır metal iyonlarının olası girişimi EDTA eklenerek önlenmiştir. İçme ve nehir sularında nitrat iyonunun rutin analizi için uranil asetat eşliğinde bir akışta enjeksiyon (Flow-Injection)

sistemi ile bağlantılı kare dalga polarografik yöntem kullanılmış ve  $2\mu\text{M}$  'lık nitrat tayin sınırına ulaşılmıştır (Yarnitzky and Ariel ,1990). Çalışma elektrotu olarak civa damla elektrot , yardımcı elektrot olarak platin elektrot , referans elektrot olarak ta gümüş/gümüş klorür elektrot kullanılmıştır. Destek elektrolit ise potasyum sülfat - hidroklorik asit ya da sodyum klorür - hidroklorik asit eşliğindeki uranil asetat çözeltisidir. Bu çalışmada daha önce diferansiyel puls polarografik olarak optimum koşulları belirlenen uranil yöntemi, hızlı tarayan kare dalga polarografisi ve hat üzerinde hava boşaltma düzeneği olan bir akışta enjeksiyon sistemi ile kombine edilerek çok basit , hızlı ve duyarlı bir yöntem haline getirilmiştir. Tekrarlanabilirliğin yüksek olması nedeniyle boş deneme çözeltisinin standart sapması düşük olmakta , bu da tek tayin yöntemlerinden çok daha düşük tayin sınırına ulaşmayı sağlamaktadır.

#### 2.4.1.2. Diğer İyonlar Eşliğinde Direkt Yöntemler

Johnson ve Robinson (1952) molibdat iyonunun difüzyon akımında nitrat iyonu eşliğinde bir zenginleşme olduğunu ve bu zenginleşmenin nitrat iyonu konsantrasyonu ile orantılı olduğunu saptamışlar ve bundan yararlanarak 0.1 M sülfürik asit , 0.2 M sodyum sülfat ,  $8.75 \times 10^{-4}$  M sodyum molibdat içeren çözeltide nitrat iyonu tayinini gerçekleştirmişlerdir. Bu araştırmacılar nitrat eşliğindeki akım zenginleşmesinin civa damla elektrot üzerinde nitrat ve molibden (III) arasında oluşan kimyasal reaksiyona bağlamışlardır. Buna göre nitrat iyonu , molibden (III) 'ü , molibden (V)'e yükseltgemekte , bu iyon daha sonra katotta indirgenerek -0.5 V 'da bir akım artışına neden olmaktadır.

Daha sonra molibdat iyonu eşliğinde benzer çözeltilerde nitrit iyonu tayini de gerçekleştirilmiştir ( Chow and Robinson , 1953 ). Bu araştırmacılar molibdat iyonundaki benzer akım zenginleşmesinin nitrit iyonu eşliğinde de oluştuğunu gözlemlemişler , bu zenginleşmeye neden olan kimyasal reaksiyonun mekanizmasını benzer şekilde açıklamışlardır. Buna göre , akım zenginleşmesi molibden (VI) 'nın molibden (V) 'e indirgendiği -0.15 V potansiyelde gerçekleşmektedir. Bu da katotta oluşan molibden (V) 'in nitrit tarafından molibden (VI) 'ya yükseltgendiğini ve civa damla elektrot üzerinde tekrar molibden (V) 'e indirgendiğini göstermektedir. Molibden (V) 'in molibden (VI) 'ya yükseltgenmesi , nitrit tarafından mümkün olmakta , nitrit ise bunu sağlayamamaktadır. Bu araştırmacılar nitrat ve nitrit iyonunu birarada içeren

çözeltilerde de polarografik tayini gerçekleştirmişlerdir. Buna göre -0.15 V' da doymuş kalomel elektrota karşı sülfürik asitli ya da hidroklorik asitli ortamda nitrit iyonu tayin edilmiştir. Bu koşullarda nitrat iyonu ilave bir pik artışı gerçekleştirememektedir. Daha sonra nitrit iyonu hidrojen peroksit ile nitrate yükseltgenerek toplam nitrat miktarı tayin edilmiş , iki tayin arasındaki farktan nitrit iyonunun miktarına geçilmiştir.

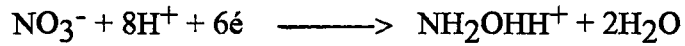
Hamm ve Withrow ( 1955 ) krom (III) iyonunun glisin ile verdiği kompleks iyonları çalışırken krom (III) - glisin (1:3) kompleksinin ortamdaki nitrat ya da nitrit ile indüklenmiş redüksiyon dalgası verdiğini ve bu dalganın nitrat ya da nitrit konsantrasyonu ile orantılı olduğunu saptamışlardır. Bu araştırmacılar önceden hazırladıkları kompleks iyon çözeltisine nitrat ya da nitrit çözeltisi ekledikten sonra , - 1.2 V ile -2.0 V arasında doymuş kalomel elektrota karşı , civa damla elektrot kullanarak polarogramları elde etmişlerdir. En iyi sonuçların pH 3.4 - 7.5 arasında olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak nitrat ve nitritin redüksiyonları sırasında aldıkları  $\epsilon$  sayıları ile ilgili kaba hesaplamalar yapmışlar , yöntemle girişim yapan iyonların borat ve fosfat olduğunu belirlemişlerdir.

Nitrat ve nitrit iyonunun iterbium (III) 'ün iterbium (II) iyonuna indirgenmesiyle ilgili polarografik dalganın zenginleşmesine dayanan diferansiyel puls polarografik bir yöntem geliştirilmiştir ( Boese et al .,1977 ). Bu yöntemde  $1.4 \times 10^{-5}$  M iterbium (III) klorür ile 0.1 M amonyum klorür destek elektroliti kullanılarak pH 3.5 - 7.2 arasında çalışılmış , çalışma elektrotu olarak civa damla elektrot , referans elektrot olarak doymuş kalomel elektrot kullanılmıştır. Çözeltiye baryum klorür eklenerek , ortamdaki sülfat ve fosfat iyonları çöktürülmüştür. Yöntem , toprak ve su örneklerinde nitrat ve nitrit tayinine uygulanmış , toprakta 0.2 ppm , doğal sularda 0.1 ppm nitrat azotu saptanabilmiştir. Nitrat ve nitrit iyonunun yanyana tayin edilebilmesi için analiz çözeltileri ile pH 4.5 ve 7 'de ayrı ayrı çalışılmış , pH 7 'de nitrit iyonunun çok daha fazla akım artışına neden olmasına dayanarak simultene tayin gerçekleştirilmiştir.

Vanadyum (IV)-1,2 -sikloheksandiamintetraasetat kompleksinin polarografik indirgenme dalgasının amonyum klorür-amonyak tampon çözeltisinde pH 8.6 'da yükseltgen olarak nitrat ya da nitrit ilavesiyle artmasına dayanan bir nitrat ve nitrit tayin yöntemi geliştirilmiştir ( Kato et al ., 1983 ). Kompleksin konsantrasyonunun nitrat ya da nitritinkinin beş katından daha fazlası olması durumunda katalitik dalga , yükseltgenin konsantrasyonu ile orantılı olduğu gözlemlenmiş , kompleks

konsantrasyonu 0.5 mM 'ın altında tutularak ikili karışım içinde nitrit iyonu tayin edilebilmiştir. Nitrit tayininin nitrat tarafından etkilendiği gözlenerek belli miktarda nitrit içeren 1-10 mM kompleks çözeltileri ile ölçü eğrisi hazırlanarak , nitrat tayini yapılmıştır.

Bir başka çalışmada zirkonyum (IV) iyonu eşliğinde nitrat iyonunun polarografik olarak indirgenmesi doğru akım ve faz seçimli alternatif akım polarografik olarak incelenmiş , toplam indirgenme sürecinin ,



şeklinde olduğu potansiyel kontrollü elektroliz ile kanıtlanmıştır ( Ogawa et al ., 1986 ).

### 2.4.1.3. Diğer Direkt Yöntemler

Nitrat iyonunun direkt polarografik tayinine olanak veren bir yöntem bu iyonun N , N - dimetilformamiddeki çözeltilisinin -2.463 V yarı dalga potansiyelinde verdiği katodik dalganın akım şiddetinin ölçülmesine dayanmaktadır ( Braun and Loverso , 1979 ). Bu dalga nitrat iyonunun bir e olarak ve tersinir olarak NO<sub>2</sub> 'e indirgenmesine bağlanmaktadır. Bu yöntem dimetilformamiddeki nitratın indirgenmesine dayandığı için sulu çözeltilerdeki nitrat tayininde uygun olmamaktadır , ancak katı örneklerdeki nitrat tayini için tavsiye edilmektedir. Çalışmada , buna bağlı olarak katı gübrelerde nitrat tayini yapılmıştır. Yöntem kalsiyum nitrat , potasyum nitrat ve sodyum nitrat tayinine ayrı ayrı uygulanmış ve her üç tuzla aynı katodik dalga elde edilmiş , ancak potasyum nitrat dimetilformamidde daha fazla çözüldüğü için koşulların saptanmasında tercih edilmiştir. Bu çalışmada doğru akım polarografik yöntem yanında siklik voltametri ve potansiyel kontrollü kulometri de denenmiş , polarografik yöntemin en uygun elektrokimyasal yöntem olduğu saptanmıştır.

Yine gübreye uygulanan bir başka direkt polarografik nitrat tayin yönteminde destek elektrolit olarak kalsiyum klorür kullanılmıştır ( Mishra and Banerjee , 1973 ). Sodyum nitrat ve amonyum nitratın 3M kalsiyum klorür çözeltisinde verdiği tanımlanabilen tersinir polarografik dalgaların yüksekliği ölçülerek 200 ppm 'den az sodyum nitrat ve

416 ppm 'den az amonyum nitrat miktarları tayin edilebilmiştir. Bu yöntemde klorürün , nitrat iyonu tayinine engel olmadığı görülmüştür.

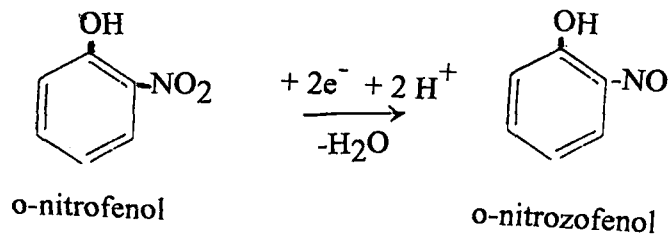
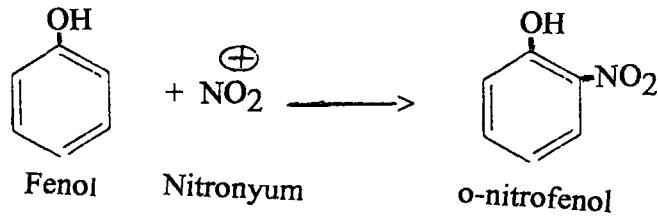
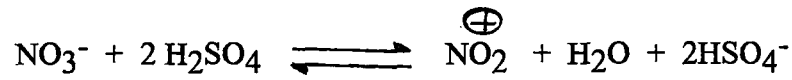
Korrozif çözeltilerde ve çimentoda yapılan bir başka direkt polarografik nitrat tayininde civa damla elektrot ve kalomel elektrot kullanılmıştır ( Kurbatavo and Perepelkina , 1969). Bu çalışmada 0.01 N sodyum nitratın 1-5 ml 'lik hacimlerinin 25 ml 'ye seyreltilmesiyle elde edilen çözeltilerden düzgün bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Örnekler ; standart çözeltilerde maksimum önleyici olarak metil kırmızısı kullanılarak tayin edilmiş ve nitrat iyonu içerdiği difüzyon akımdan bulunmuştur. Yöntemin hata oranı %  $1 \times 10^{-2}$  -  $6 \times 10^{-2}$  olarak saptanmıştır.

Diğer bir direkt tayin yöntemi , tamponlanmış çözeltideki nitrat iyonunun diğer birçok anyon yanında tayini için kullanılan katot ışını polarografisi yöntemidir ( Rooney , 1965).

## 2.4.2. İndirekt Polarografik Yöntemler

### 2.4.2.1. Nitrofenoller Üzerinden İndirekt Tayinler

Nitrat iyonunun indirekt polarografik tayininde uygulanan en önemli yöntem , asitli ortamda oluşan nitronyum iyonunun fenolik bileşikler ile oluşturduğu nitrofenoller üzerinden gerçekleştirilmektedir.



Oluşan o-nitrofenol , polarografi kabında 2é alarak o-nitrozofenole indirgenmektedir.



Bu konudaki ilk çalışma Bartik ve Kupka (1960) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmacılar biyolojik materyallerdeki nitratın derişik sülfürik asitli ortamda polarografik olarak indirekt tayini ile ilgili çalışmalar yapmışlardır.

Kanda ve protein içeren dokuların elüatlarında sülfosalisilik asitin nitro ürününün indirgenmesine dayanan bu çalışmada, aynı zamanda proteinler de çökmektedir.

İdrarda ve protein miktarı düşük olan materyallerde ise nitrat, fenolün nitrolanmasından meydana gelen ürünün indirgenmesi ile tayin edilmiştir.

Bu yöntem daha sonra diferansiyel puls polarografik olarak çeşitli sularda , gübrelerin sulu çözeltilerinde , sebze ve meyve sularında ve et ürünlerinde nitrat tayinine uygulanmak amacıyla Metrohm Firması bülteninde yer almıştır ( Metrohm ). Buna göre su ve gübre ekstraktları doğrudan ; sebze , çeşitli bitki ve çamurlu örnekler su ile seyreltilip santrifüjlendikten sonra ; işlem görmüş et ürünleri ise proteinleri çöktürüldükten sonra sıvı fenol ve sülfürik asit ilave edilerek -0.17 V pik potansiyelinde civa damla elektrot kullanılarak polarografik olarak saptanmaktadır. Nitrat ve nitrit iyonunun yanyana tayininde ise hidrojen peroksit ile nitrit iyonu nitrat iyonuna yükseltgenerek toplam nitrat miktarı ; sülfamik asit ile azota indirgenerek nitrat miktarı saptanmakta , aradaki farktan nitrit iyonuna geçilmektedir. Bu yöntemde normal konsantrasyonlarda özellikle klorür ile kimyasal girişimlerin olmadığı bildirilmiştir.

Bu esasa dayanan bir başka çalışma Hartley ve Curran ( 1963 ) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada nitrat iyonunun sülfürik asit - su - asetik asit ( 6:3:1 ) içinde 2,6 - ksilenol ile oluşturduğu 4-nitro - 2,6 - ksilenolün -0.27 V yarı dalga potansiyelinde civa/civa(I) sülfat elektrotuna karşı polarografik tayini gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemle nitrat iyonu  $2 \times 10^{-5}$  -  $10^{-3}$  M konsantrasyon aralığında tayin edilmiştir. Bir yan ürün olarak oluşan 4 - nitrozo - 2,6 - ksilenol , verimi %88 ile sınırlamıştır. Fakat polarografik tayinle herhangi bir girişim yapmamıştır. Az miktarda girişim yapan oksijen yüksek nitratlı örneklerde tolere edilebilmiş , klorür iyonu ise civa(I) sülfat ile çöktürülmüş , ortamdaki civa(I) iyonu fazlası , bir katyon değiştirici reçine yardımıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır.

Nitrat iyonunun fosforik asit ve tuzlarındaki miktar tayini için 2,6 - ksilenol ile gerçekleştirilen bir başka polarografik yöntemde sülfürik asit içindeki örnek çözeltisi

sulu asetik asitteki 2,6 - ksilenol ile karıştırılarak oluşan nitro türevinin katot dalgası -0.3 V ile -0.7 V arasında civa(II) sülfat elektrotuna karşı kaydedilmiştir. Klorürün girişim yapmadığı belirtilen yöntemde hassasiyet %  $10^{-4}$  olarak belirtilmiştir ( Trukhacheva et al ., 1970 ).

Daha sonra gerçekleştirilen bir başka çalışmada 2,6 - ksilenol yerine rezorsin , floroglusin,  $\alpha$ -naftol ,  $\beta$ -naftol ya da timolün asetik asitteki 0.1 M çözeltileri kullanılmıştır ( Kozhevnikova , 1977 ). Bu aromatik fenollerin 2,6 - ksilenole göre daha yüksek polarografik aktiviteleri olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada rezorsin ile toprakta nitrat tayini sülfürik asit - su - asetik asit ( 2.5 : 2 : 0.5 ) çözeltilisinde gerçekleştirilmiştir.

Fenolün nitrolanmasına dayanan bir başka nitrat tayini de organik bileşiklerle kirlenmiş endüstriyel atık sularda alternatif akım polarografisi ile gerçekleştirilmiştir ( Wolfgang et al ., 1979 ). Ortamdaki nitrit iyonu , hidrojen peroksit ile nitrata yükseltgendikten sonra aynı şekilde tayin edilmiştir. Bu yöntemin 10-400 mg / L nitrat iyonu içeren atık sular için en uygun yöntem olduğu bildirilmiştir.

Aynı yöntem bir başka çalışmada -0.25 V yarı dalga potansiyelinde et ekstreleri ve şaraplara uygulanmıştır ( Branca et al ., 1981 ). Çalışma elektrotu olarak civa damla elektrot , referans elektrot olarak gümüş / gümüş klorür elektrotu kullanılmıştır. Örnekteki proteinler Carez I ve Carez II çözeltileri ile analizden önce çöktürülmüşlerdir. Yüksek duyarlılık ve tekrarlanabilirlik gösteren yöntemde ortalama mutlak hata et için % 1.94 , şarap için % 3.11 'dir.

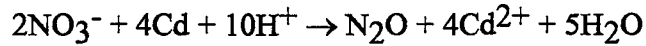
Çeşitli yiyecek ve içeceklerde nitrit ve nitrat tayini yapılan diğer bir çalışmada borik asit ile ısıtılarak çinko sülfat çözeltisi ile proteinleri çöktürülen örnek , asetat formundaki zayıf anyon değiştirici bir reçineden geçirilmiş , nitrit ve nitrat iyonları % 4 'lük sodyum hidroksit ile reçineden elüe edilmiş , daha sonra nitrat iyonu sülfürik asitli ortamda fenolün nitrolanmasına dayanan diferansiyel puls polarografi yöntemi ile , nitrit iyonu ise diazolama - kenetlemeye dayanan spektrofotometrik yöntemle 1 mg  $\text{NO}_3^-/\text{kg}$  ve 0.2 mg  $\text{NO}_2^- / \text{kg}$  hassasiyette tayin edilmiştir ( Collet , 1983 ).

### 2.4.2.2. Difenil Nitrozamin Üzerinden İndirekt Tayin

Nitrat ve nitritin diferansiyel puls polarografi yöntemiyle birarada tayinini kapsayan bir başka çalışmada her iki iyon seçici olarak sodyum bromür ile NO 'e indirgenmiş ve azot akımında sürüklenen NO 'in difenil amin ile perklorik asitli ortamda sodyum tiyosiyanatın katalizörlüğünde oluşturduğu difenil nitrozaminin tayini gerçekleştirilmiştir ( Holak and Specchio , 1992 ). Nitrit iyonu zayıf sülfürik asitli , nitrat iyonu ise derişik sülfürik asitli ortamda NO 'e indirgendiklerinden , iki iyonun yanyana tayini mümkün olmuştur. Çalışmada elektrotu civa damla elektrot , karşı elektrot platin elektrot ve referans elektrot gümüş / gümüş klorür elektrot olup , pik potansiyeli -0.66 V 'dur.

### 2.4.2.3 Kadmiyum Üzerinden İndirekt Tayin

Nitrat iyonunun elementel kadmiyum ile 0.1 N hidroklorik asitli ortamda oluşturduğu kadmiyum iyonunun 0.1 M potasyum klorür eşliğinde , standard kalomel elektrota karşı -0.6 V' da polarografik ölçümüne dayanan bir yöntem geliştirilmiştir ( Hassan , 1981 ). Bu çalışmada nitrat iyonunun hidroklorik asitli ortamda kadmiyum ile N<sub>2</sub>O oluşturacak şekilde reaksiyona girdiği ; oluşan N<sub>2</sub>O 'nun IR - spektrofotometrik ve gaz kromatografik saptanmasıyla kanıtlanmış , reaksiyon eşitliği aşağıdaki şekilde belirlenmiştir.



Aynı çalışmada bu reaksiyon sonucu oluşan kadmiyum iyonu , polarografik yöntem yanında atomik absorpsiyon spektrofotometrik ( AAS ) , potansiyometrik ( kadmiyum seçici elektrotla ) ve EDTA ile titrimetrik olarak da saptanmıştır. Yöntem , klorür , sülfat, fosfat , oksalat ve amonyum iyonlarının yüz kat aşırısında bile girişim yapmaksızın uygulanabilmiştir. Bu nedenle ve 1 mg nitrat azotu 16 mg kadmiyuma eşdeğer olduğundan yöntemin avantajlı olduğu bildirilmiştir.

## 2.5. İŞLENMİŞ ET ÜRÜNLERİNDE NİTRAT VE NİTRİT TAYİN YÖNTEMLERİ

### 2.5.1. Spektrofotometrik Tayin Yöntemleri

#### 2.5.1.1. Nitrofenoller Üzerinden Spektrofotometrik Yöntemler

Nitrat iyonunun fenolik bileşikleri nitrolamasına ve oluşan renkli ürünün absorbansının ölçülmesine dayanan spektrofotometrik yöntem et ürünlerinde uygulama alanı bulmuştur ( Selmeçi et al ., 1975 ). Bu çalışmada et ürünü boraks ile deproteinize edildikten sonra sülfürik asitli ortamda salisilik asit ile nitrosalisilata dönüştürülmüş ve ürünün 415 nm 'deki absorbansı ölçülmüştür. 2,4 - ksilenol ile sülfürik asitli ortamda 6 - nitro - 2,4 - ksilenol oluşumuna dayanan spektrofotometrik yöntem et ve et ürünlerinde nitrat tayini için istenen ofisiyel yöntem olmaktadır ( JAOAC , 1980 ; TSE , 1974 ).

#### 2.5.1.2. Diazolama - Kenetleme Reaksiyonuna Dayanan Spektrofotometrik Yöntemler

İşlenmiş et ürünleriyle çeşitli zamanlarda yapılan araştırmalarda nitrat iyonu enzimatik olarak ya da kadmiyum kolonda nitrite indirgendikten sonra çeşitli diazolama - kenetleme belirteçleri kullanılarak görünür bölge spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Bu yöntem et ürünlerinde nitrat tayini için ofisiyeldir ( JAOAC , 1980 ; TSE , 1974 ). Bu çalışmaların en önemlileri Tablo 2.1 'de verilmiştir.

**Tablo 2.1. Et Ürünlerinde Diazolama - Kenetleme İle Spektrofotometrik Yöntemler**

Kaynak	Saptanan İyon	Diazolama-Kenetleme Belirteci
Adrianse and Robbers , 1969	Nitrat , Nitrit	Sülfanilik Asit / 1-Naftilamin-7-sülfonik Asit
Barbieri et al ., 1979	Nitrat , Nitrit	Sülfanilik Asit / Fenol
Bousset , 1980	Nitrat , Nitrit	Griess Belirteci
Barbieri et al ., 1980	Nitrat , Nitrit	Sülfanilik Asit / $\alpha$ -Naftilamin . HCl
Hamano et al ., 1983	Nitrat	Griess Belirteci

### **2.5.1.3. Bakır(I) Neokuproin Kelatı İle İyon Çifti Üzerinden Spektrofotometrik Yöntem**

Sudaki nitrat iyonunun bakır(I) neokuproin kelatı ile hafif asitli ortamda oluşturduğu iyon çiftinin metil izobutil keton ( MIBK ) çözücüsündeki absorbansının ölçümüne dayanan spektrofotometrik yöntem, sosis, salam, ve sucuklarda nitrat tayinine uygulanmıştır ( Canlıca , 1994 ). Bu çalışmada sulu çözeltide bakır (II) sülfat , hidroksil amonyum sülfat ile bakır(I)'e indirgenmiş , pH 6.2 fosfat tamponu ve nitrat iyonu ilavesinden sonra karışım MIBK ile ekstre edilmiştir. Organik fazın absorbansı 452 nm 'de ölçülerek miktar tayini gerçekleştirilmiştir. Aynı çalışmada nitrit iyonu serik sülfat ile nitrata yükseltgenerek tayin edilmiştir.

### **2.5.2. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrik Yöntem**

Bölüm 2.5.1.3 'de açıklanan yöntem çeşitleri et ürünlerinde AAS ile nitrat ve nitrit tayinine de esas oluşturmuştur ( Silva et al .,1986 ). Bu çalışmada sıvı-sıvı ekstraksiyonu, akışta enjeksiyon sisteminde yapılarak ölçümler MIBK fazındaki bakır(I) iyonu üzerinden AAS 'de yapılmıştır.

### **2.5.3. İyon Seçici Elektrotlarla Tayin Yöntemleri**

İşlem görmüş et ürünlerinde ve et konservelerinde nitrat seçici elektrot kullanılarak 5 ppm 'e kadar nitrat miktarları tayin edilebilmiştir ( Yu and Sun , 1980 ). Klorür iyonu girişim yaptığından önceden gümüş sülfat ilavesiyle uzaklaştırılmış , nitrit iyonu ise % 40 oranından az bulunması halinde girişim yapmadığı saptanmıştır. Benzer bir çalışmada et ürünlerindeki nitrat ve nitrit iyonları bir sokslet cihazında bazik pH 'da ekstre edildikten sonra nitrat tayini yapılmış , ortamdaki nitrit iyonu da nitrata yükseltgendikten sonra tayin edilmiştir ( Choi and Fung , 1980 ). Bir diğer çalışmada da Orion 93 - 07 nitrat seçici elektrotu ile konserve salamlar ve sosislerde nitrat tayini gerçekleştirilmiştir ( Qui , 1992).

### 2.5.4. İyon Kromatografik Tayin Yöntemleri

İşlem görmüş et ürünlerinde iyon kromatografik nitrat ve nitrit tayin yöntemleri Tablo 2.2 'de görülmektedir.

**Tablo 2.2. Et Ürünlerinde İyon Kromatografik Tayin Yöntemleri**

Kaynak	Saptanan İyon	Kolon	Çözücü
Tateo et al ., 1982	Nitrat , Nitrit	Dionex 30827	0.003 M NaHCO <sub>3</sub> / 0.0024 M Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Jackson et al ., 1984	Nitrat , Nitrit	Düşük Kapasiteli Anyon Değişirici Kolon	Klorometansülfonat
Mirna et al ., 1984	Nitrat	AG1 / ASI	3 mM Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> / 2 mM NaOH
Eggers and Cattle ,1986	Nitrat , Nitrit	IC - Pak	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
Schreiner et al ., 1988	Nitrat , Nitrit	Polistiren/Divinil- benzen Reçinesi	5 mM metansülfonil- klorür
Arneith and Herold,1992	Nitrat , Nitrit	Ion Pac AS4A	-----

### 2.5.5. Polarografik Tayin Yöntemleri

Bölüm 2.4.2.1 'de anlatıldığı gibi , asitli ortamda fenolün nitrolanmasına dayanan indirekt polarografik nitrat tayin yöntemi çeşitli et ürünlerinde doğru akım polarografik ( Branca et al ., 1980 ) ve diferansiyel puls polarografik ( Metrohm ) uygulama alanı bulmuştur.

## **2.6. SEBZELERDE NİTRAT VE NİTRİT TAYİN YÖNTEMLERİ**

### **2.6.1. Spektrofotometrik Tayin Yöntemleri**

#### **2.6.1.1. Nitrofenoller Üzerinden Spektrofotometrik Yöntemler**

Rauter ve Wolkerstorfer (1982) normal organik ve sera kültürü sebzelerde nitrat iyonu tayini için bu iyonun p-krezol ile oluşturduğu 4-metil-2-nitrofenolün buhar destilasyonundan sonra spektrofotometrik olarak saptanmasına dayanan bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışma sonunda sera sebzelerinin önemli miktarlarda nitrat içerdiği saptanmıştır.

Aynı esasa dayanan bir başka çalışmada ıspanak , domates , patates gibi sebzelerde bulunan nitrat iyonu derişik sülfürik asitli ortamda 2-sec-butilfenol ile nitro ürününe dönüştürülerek spektrofotometrik tayin gerçekleştirilmiştir (Tanaka et al.,1982). Sarı renkli ürün önce toluen ile ekstre edilmiş , daha sonra bazik ortama geri ekstre edilen renkli ürünün absorbanısı 418 nm 'de okunmuş ve kırk iki tayin için standart sapma %1.41 olarak hesaplanmıştır.

#### **2.6.1.2. Diazolama - Kenetleme Reaksiyonuna Dayanan Spektrofotometrik Yöntemler**

Çeşitli sebzelerde uygulanmış olan bu yöntemin esası nitrit iyonunun asitli ortamda aromatik aminlerle oluşturduğu diazonyum tuzunun , bir aromatik amin ya da fenolle renkli bir diazo ürününe dönüşmesi ve bu ürünün 540 nm civarındaki absorbanısının ölçülmesidir. Nitrat iyonunun bu yöntemle tayini için önce nitrit iyonuna indirgenmesi gerekmektedir. Bu yöntemle çeşitli sebzelerde nitrat ve nitrit tayini ile ilgili kaynaklar ve yöntemin koşulları Tablo 2.3 'de topluca görülmektedir.

**Tablo 2.3. Sebzelede Diazolama - Kenetleme İle Spektrofotometrik Tayinler**

<b>Kaynak</b>	<b>Saptanan İyon</b>	<b>İndirgeme Ajanı</b>	<b>Diazolama - Kenetleme Belirteci</b>	<b>Materyal</b>
Cemeroğlu ve Doğan,1977	Nitrat	Çinko Tozu/ Kadmiyum Asetat	Griess Belirteci	Pazı
Lemieszck - Chodorowska, 1977	Nitrat , Nitrit	Metalik Kadmiyum	Griess Belirteci	Sebze
Vdovina and Medvedeva ,1979	Nitrat , Nitrit	Kadmiyum Tozu	Griess Belirteci	Sebze , Kavun
Lox and Okabe,1982	Nitrat , Nitrit	Kadmiyum Kolon	a)Griess Belirteci b)Sülfanilamid/ N-1-naftiletilendiamin	Lahana , Turp , Mantar
Barbieri et al.,1983	Nitrat , Nitrit	Çinko Tozu/ Kadmiyum Asetat	Sülfanilamid / N-1-naftiletilendiamin	Sebze

### 2.6.2. İyon Seçici Elektrotlarla Nitrat Tayin Yöntemleri

Değişik sebzelerde iyon seçici elektrotlarla nitrat tayini yöntemlerine ve bunların diğer yöntemlerle kıyaslandırılmalarına literatürlerde rastlanmaktadır. Bu çalışmalar Tablo 2.4. 'de özetlenmiştir.



**Tablo 2.4. Sebzelerde İyon Seçici Elektrotlarla Tayin Yöntemleri**

Kaynak	Elektrot	Materyal
Adamowicz et al .,1980	-----	Ispanak,Havuç,Fasulye
Scaife and Stevens , 1983	-----	Lahana
Berezhnova and Aruztamyam,1984	EM-NO <sub>3</sub> -01	Sebze , Kavun
Penchuk et al.,1988	-----	45 Sebze Örneği
Consalter et al.,1992	Orion 93-07	Havuç,Ispanak,Maydanoz, Kereviz
Krzysik and Nurczyk,1992	Orion	Sebze,Meyve,Meyve suyu

### 2.6.3. İyon Kromatografik Nitrat Tayin Yöntemleri

Çeşitli sebzelerde iyon kromatografik nitrat tayin yöntemleri 1990 'lı yıllarda oldukça yaygın olarak uygulanmaktadır. Bu çalışmalar Tablo 2.5. 'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.5. Sebzelerde İyon Kromatografik Tayin Yöntemleri**

Kaynak	Kolon	Çözücü	Materyal
Penchuk et al .,1988	-----	-----	45 Sebze Örneği
Zhu et al.,1991	ZIC- 1 ve YSPZ Kolonlar	-----	Lahana,Ispanak, Salatalık
Schwedt et al.,1992	-----	-----	Patates
Muir and Soroka, 1992	Anyon Değiştirici HPLC Kolonu	Borat - Glukonat Tamponu	Tatlı Yonca
Murcia et al.,1992	PAC AS4A Polistiren - Divinilbenzen Kolon	% 0.015 Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> / % 0.005 NaHCO <sub>3</sub>	Ispanak

### 3. DENEYSEL BÖLÜM

#### 3.1. MADDELER VE ÇÖZÜCÜLER

Sodyum nitrat (Merck) , sodyum nitrit (Merck) , hidrojen peroksit (Merck , %35 ) , sülfürik asit (Merck , % 98 ) , hidroklorik asit (Baker Analyzed , % 37 ) , sülfamik asit ( Merck , extra pure , % 95-98 ) , kadmiyum granülü ( Merck , pro analysi : sırasıyla 6M hidroklorik asit , destile su ve mutlak etanol ile yıkanıp kurutulmuş) , EDTA (Merck) , sıvı fenol ( Pfizer , pure ) , amonyum alüminyum sülfat (Merck , Puro analysi ) , bidestile su (permanganat üzerinden destilllenmiş ).

#### 3.2.ÇÖZELTİLER

Sodyum nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ) :  $1.6 \times 10^{-2}$  M  
Sodyum nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) :  $1.6 \times 10^{-2}$  M  
Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) : % 3.5

Sülfamik asit ( $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ )	: % 2
Hidroklorik asit ( $\text{HCl}$ )	: 0.1 N
Kadmiyum klorür ( $\text{CdCl}_2$ )	: 1980 ppm
EDTA	: %1

### 3.3.GEREÇLER

Polarograf ( Metrohm Herisau Polarecord E 506 ) , atomik absorpsiyon spektrofotometresi ( SpektrAA - 20 , Varian ) , analitik terazi ( Mettler H 72 , 0.1 mg 'a kadar duyarlı ) , santrifüj ( Janetzki T 30 ) , etüv ( Heraeus ) , terazi ( Sartorius ) , ultrahomojenizatör ( Bosch 1210 ) , parçalıyıcı ( Braun ) , su banyosu ( Heizbad Kermanlar ) , bidestile su cihazı ( NS 278. TS 8234 ) süzgeç kağıtları ( Mavi, Beyaz, Siyah, Kaba ) , çeşitli cam malzemeler ( Teknik Cam ) .

### 3.4.ÇALIŞMA YÖNTEMİ

#### 3.4.1. Nitrofenol Üzerinden DP Polarografik Yöntem

##### 3.4.1.1. DP Polarogram Koşulları

Nitrat iyonunun derişik sülfürik asitli ortamda sıvı fenol ile oluşturduğu o-nitrofenolün polarografik olarak o-nitrozofenole indirgenmesine dayanan tayin yönteminin diferansiyel puls polarografik optimum koşulları incelendi. Bu amaçla standart sodyum nitrat çözeltisinden bidestile su ile gerekli seyreltmeler yapılarak  $50 \mu\text{g/ml NO}_3^-$  iyonu içeren çözelti hazırlandı. Bu çözeltinin 1 ml 'si 25 ml 'lik balonjojeye aktarıldı. Üzerine 2 ml sıvı fenol ve 8 ml derişik sülfürik asit eklendi. Soğutulan karışım bidestile su ile hacme tamamlandıktan sonra polarografi kabına boşaltıldı  $2.0 \mu\text{g/ml NO}_3^-$  iyonu içeren bu çözelti ile düzgün polarogram elde edilebilen en yüksek hassasiyette çalışılarak diferansiyel puls polarogramın optimum koşulları belirlendi. Buna göre koşullar :

$U_{\text{başlangıç}}$ potansiyeli:	0.0 V
$\Delta U$	: -0.5 V
$t_{\text{damla}} \text{ ömrü}$	: 1s
Damla Hızı	: 2mm/damla
Hassasiyet	: $1.0 \times 10^{-9}$ (A/mm)
Çalışma Elektrotu	: Stasyonere Civa Damla Elektrot ( SMDE)
Referans Elektrot	: Ag/AgCl , KCl (3M) Elektrot
Yardımcı Elektrot	: Camsı Karbon Elektrot

### 3.4.1.2. Et Ürünleri İçin Standart Çözeltiler ve Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

İşlem görmüş et ürünlerinde nitrat ve nitrit iyonlarının tayini amaçlandığından , matris etkisini gidermek üzere standart çözeltiler ; dana etine sodyum nitrat ve sodyum nitrit katarak ve deproteinizasyon ile gerekli seyreltme işlemleri yapılarak hazırlandı. Deproteinizasyon için en uygun belirteç araştırılarak amonyum alüminyum sülfat ile çöktürme yapılmasının uygun olduğu anlaşıldı.

#### a) Sodyum Nitrat Standardı ve Ölçü Eğrisi

105 °C 'de kurutulmuş sodyum nitrat 0.1371 g tartıldı ve içinde 10 g homojenize edilmiş dana eti ve 70 ml su bulunan 250 ml 'lik behere aktarıldı. 90 °C ' de bir saat ısıtılan karışımın hacmi bir balonjojede su ile 100 ml ' ye tamamlandı ve kaba süzgeç kağıdından süzüldü. Süzüntünün 25 ml 'si 1 ml doymuş amonyum alüminyum sülfat çözeltisi ilavesinden sonra onbeş dakika daha ısıtıldı ve su ile 50 ml 'ye seyreltilti. Çöken proteinler beyaz band süzgeç kağıdından süzülerek ayrıldı. Süzüntüden alınan 1,2,3,4 ve 5 ml 'lik hacimler su ile 25 ml'ye seyreltildikten sonra herbir çözeltinin 1 ml'si 25 ml'lik balonjojeye aktarıldı. 2 ml sıvı fenol ve 8 ml derişik sülfirik asit eklendi. Soğutulan karışım su ile hacmine tamamlandıktan sonra diferansiyel puls polarogramlar alındı ve aynı şekilde beş kez çalışılarak ortalama difüzyon akımı değerleri ile konsantrasyonlar arasında bir ölçü eğrisi hazırlandı. Sonuçlar Bölüm 4.1.2 ' de verilmektedir.

## **b) Sodyum Nitrit Standardı**

0.1111 g kurutulmuş sodyum nitrit ile aynı şekilde çalışılarak çözeltiler hazırlandı. Ancak amonyum alüminyum sülfat ilavesinden önce % 3.5 'luk hidrojen peroksit çözeltisinden 1 ml ilave edilerek ve onbeş dakika ısıtılarak nitrit iyonu nitrata yükseltgendi. Sonuçta elde edilen çözeltilerle hazırlanan ölçü eğrisinin sodyum nitrat eğrisi ile aynı olduğu saptandı.

### **3.4.1.3. İşlem Görmüş Et Örneklerinin Çalışılması**

10 g et ürünü örneği 25 ml su ile homojenize edildikten sonra 1 saat 90 °C 'lik su banyosunda ısıtıldı. Kaba süzgeç kağıdından 50 ml 'lik balonjojeye süzüldü. Çökelti su ile yıkandı. Süzüntü su ile hacmine tamamlandı. Bu çözelti 25 ml hacminde iki kısma ayrıldı. Birinde 1 ml amonyum alüminyum sülfat ilave edilerek ısıtma , süzme ve 50 ml 'ye su ile tamamlama yapıldıktan sonra 2 ml örnek ile çalışılarak nitrat iyonu miktarı ölçü eğrisinden saptandı. Diğerinde ise önce 1 ml hidrojen peroksit çözeltisiyle yükseltgeme yapıldı ve sonra aynı şekilde çalışılarak nitrit ve nitrat iyonu toplamı ölçü eğrisinden bulundu. İki sonucun farkı alınarak nitrit miktarına geçildi. Aynı örnekten iki paralel çalışma yapıldı ve ortalama değerler kullanıldı. Sonuçlar Bölüm 4.1.3 'de görülmektedir.

## **3.4.2. Kadmiyum Üzerinden AAS Yöntemi**

### **3.4.2.1. AAS Yönteminin Koşulları**

Nitrat iyonunun hidroklorik asitli ortamda kadmiyumu yükseltgemesine dayanan yöntemin ( Bölüm 2.4.2.3 ) optimum koşulları AAS ile incelendi. Bu amaçla katı sodyum nitrat 0.1N hidroklorik asitli ortamda , CO<sub>2</sub> atmosferinde , elementel kadmiyum ile kaynatıldı. Reaksiyon karışımının uygun seyreltmeleri sonunda çözeltide oluşan kadmiyum ( II ) iyonunun atomik absorbansı , aynı koşullarda hazırlanan boş deneme çözeltisine karşı 228.8 nm ' de ölçüldü. Bu ölçümlere ait AAS parametreleri :

Dalga Boyu : 228.8 nm  
Lamba Akımı : 4 mA  
Bant Genişliği : 0.5 nm  
Yanııcı Gaz : Asetilen  
Yakıcı Gaz : Hava  
Gaz Basınçları : 1.5 / 3.5  
Işın Kaynağı : Kadmiyum Oyuk Katot Lamba  
Okuma Sayısı : 3

Reaksiyonun optimum koşullarını belirlemek amacıyla ısıtma süresiyle nitrit giderilmesindeki sülfamik asit/ hidroklorik asit oranları incelendi. Sonuçlar Bölüm 4.2.1' de verilmiştir.

### 3.4.2.2 Ölçü Eğrisinin Hazırlanması

#### a ) Kadmiyum Standardı ve Ölçü Eğrisi

Bir kadmiyum granülü ( 0.495 g ) çok az miktarda  $\text{HNO}_3$  : su (1:1 ) karışımında çözüldü. Daha sonra 250 ml 'lik balonjojede hacmine tamamlandı. Bu çözeltilinin 2.5 ml' si 100 ml' lik balonjojeye aktarılarak hacme tamamlandı. Bu ara stoktan alınan 0.50 , 0.75 , 1.00 , 1.25 , 1.50 ml' lik porsiyonlar 50 ml' lik balonjojelere aktarılarak hacme tamamlandı. Böylece sırasıyla 0.495 , 0.742 , 0.990 , 1.237 , 1.485 ppm kadmiyum iyonu içeren standartlar elde edildi.

Standartların hazırlanması sırasında hacme tamamlama işlemleri hem 0.1 N hidroklorik asit ile hem de destile su ile yapılarak sonuçlar karşılaştırıldı. Arada fark olmadığı için , deney koşullarına uygunluğu nedeniyle standartların hazırlanmasında 0.1 N hidroklorik asit kullanıldı.

Herbir çözeltideki kadmiyumun atomik absorbanı aynı koşullarda hazırlanan boş deneme çözeltilisine karşı üçer kez okundu. Absorbans değerlerinin ortalaması (  $\bar{A}$  ) ile kadmiyum içerikleri arasında ölçü eğrisi hazırlandı. Ölçü eğrisinin regresyon yöntemi en küçük kareler yöntemiyle hesaplandı.

## b ) Sodyum Nitrat Standardı ve Ölçü Eğrisi

105 °C 'de kurutulmuş sodyum nitratın 0.0137 g ' ı 10 ml 0.1N hidroklorik asit ile çift boyunlu 100 ml hacminde bir balonda geri soğutucu altında ve CO<sub>2</sub> gazı akımında , Bunsen beki üzerinde kaynama sıcaklığına getirildi. Bir granül (50-100 mg ) kadmiyum ilavesinden sonra otuz dakika kaynatıldı. Reaksiyon karışımı 100 ml 'lik bir balonjojeye aktarılarak 0.1N hidroklorik asit ile hacmine tamamlandı. Bu çözeltiden 0.1 , 0.2 , 0.3 , 0.4 , 0.5 ml' lik hacimler aynı çözücü ile 100 ml' ye seyreltilerek 0.362 - 1.810 µg/ml Cd<sup>2+</sup> ( 0.1-0.5 µg/ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ) içeren standart çözeltiler elde edildi. Bu çözeltilerle a şıkında olduğu gibi çalışılarak ölçü eğrisi elde edildi. Ölçü eğrilerine ait sonuçlar Bölüm 4.2.2 ' de verilmiştir.

### 3.4.2.3. Sebze Örneklerinin Çalışılması

10 g homojenize edilmiş sebze örneği 10 ml destile su ile onbeş dakika karıştırıldı. Kaba süzgeç kağıdı ile süzöldükten sonra aşağıdaki şekilde çalışıldı :

2 ml süzöntü (1 ml sebze ) 100 ml' lik çift boyunlu balona aktarıldı. 4 ml 0.1N hidroklorik asit ve 6 ml %2 'lik sülfamik asit ilavesinden sonra kaynayınca kadar ısıtılarak nitrit iyonu giderildi. Bir granül kamium ilavesinden sonra otuz dakika daha CO<sub>2</sub> atmosferinde geri soğutucu altında kaynatıldı. Daha sonra hacim 0.1N hidroklorik asit ile 25 ml' ye tamamlandı. Bu çözeltiden , uygun absorbans verecek şekilde 1-5 ml 'lik hacim alınarak 0.5 ml %1 'lik EDTA ilavesinden sonra 50 ml' ye aynı çözücü ile seyreltildi. Atomik absorbanslar okunarak buna karşı gelen kadmiyum miktarları ilgili ölçü eğrisinden saptandı. Buradan örnekteki nitrat iyonu miktarına geçildi. Aynı örnekten iki paralel çalışma yapıldı ve ortalama değerler alındı. Sebze örnekleri ile deproteinizasyon yapmaksızın ve amonyum alüminyum sülfat ile deproteinizasyon yaptıktan sonra yapılan ön çalışmalar ile iki sonuç arasında farklılık gözlenmediğinden sebzelerde deproteinizasyon yapmadan çalışılmasına karar verildi.

Sebze örneklerinde matriks etkisinin varlığını araştırmak üzere standart katma yöntemi uygulandı. Bunun için çalışılan herbir örneğe iki kez belli miktarda kadmiyum iyonu ilavesinden sonra ölçümler tekrarlandı. Ölçü eğrisi ve standart katma ile elde edilen sonuçlar t testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Bölüm 4.2.3 'de verilmiştir.

## 4. SONUÇLAR

### 4.1. DP POLAROGRAFİK TAYİN YÖNTEMİ

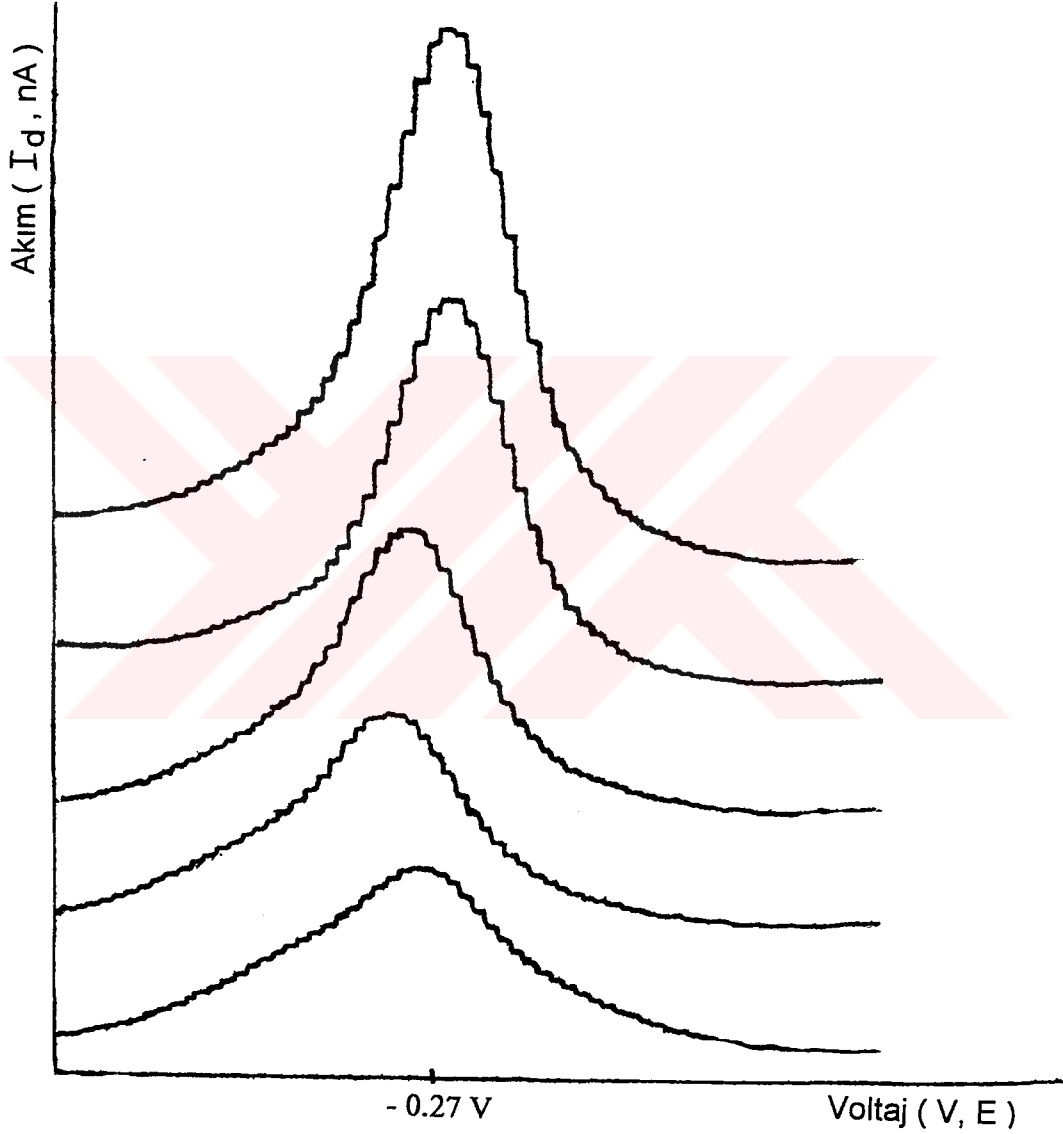
#### 4.1.1. Et Ürünleri İle Çalışma Koşulları

İşlenmiş et ürünleri ile Bölüm 3.4.1.3 'de anlatıldığı şekilde çalışılarak DP polarografik nitrat ve nitrit iyonu tayinleri gerçekleştirildi. Et ürünlerinde proteinlerin çöktürülmesi işleminde önce % 30 'luk çinko asetat ile %15 'lik potasyum ferrosiyanyür belirteçleri kullanıldı ( Metrohm ). Daha sonra belirteç sayısını teke indirmek amacıyla doymuş amonyum alüminyum sülfat ile çöktürme denendi ( Silva et al ., 1986 ). Sonuçta bu iki farklı çöktürme belirteci ile aynı sonuçların elde edildiği saptandı. İşlem soğukta yapıldığında süzmede güçlük ortaya çıktığından ve nitrit iyonunun nitrata yükseltgenmesi sırasında da ısıtma gerektiğinden ; protein çöktürmesi amonyum alüminyum sülfat belirteci kullanılarak ve sıcakta gerçekleştirildi.



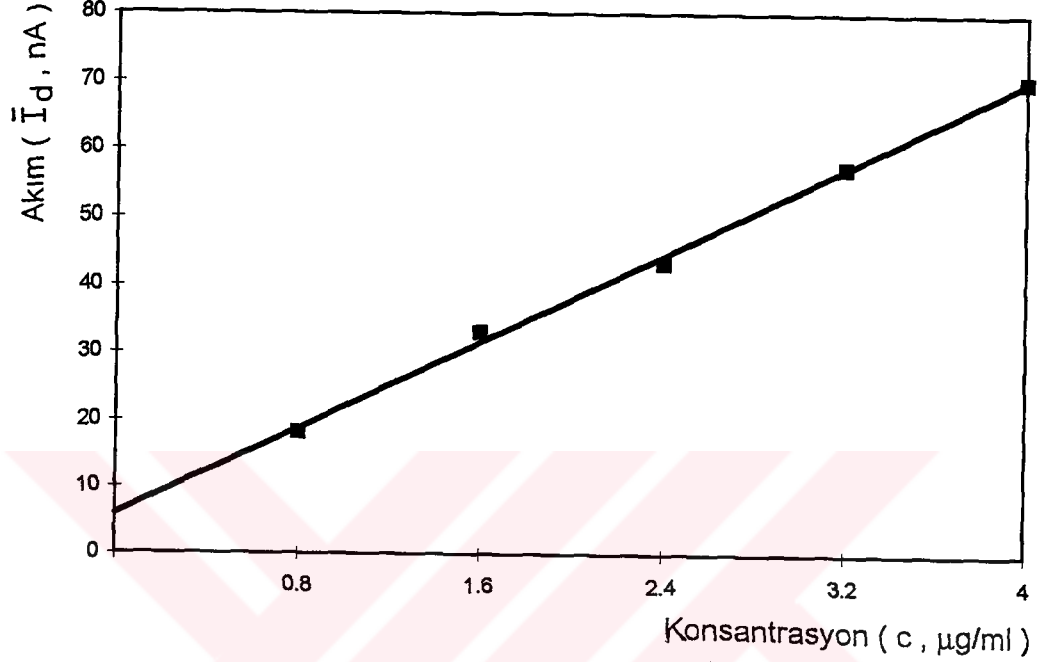
#### 4.1.2. Et Ürünleri İçin Ölçü Eğrisi

En son çözeltide  $0.8 - 4 \mu\text{g} / \text{ml}$   $\text{NO}_3^-$  konsantrasyon aralığında Bölüm 3.4.1.2. a ' da anlatıldığı şekilde polarogramlar kaydedildi ( Şekil 4.1 ).



**Şekil 4.1.  $0.8 - 4 \mu\text{g} / \text{ml}$  Konsantrasyon Aralığında Nitrat İyonunun Diferansiyel Puls Polarogramları**

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.



$$\bar{I}_d = 16.05 c + 5.92 \quad n=5 \quad (r=0.9990)$$

Şekil 4.2. Et Ürünlerine Ait Ölçü Eğrisi

Cetvel 4.1. Ölçü Eğrisine Ait Değerler ve Regresyon Analizi

$I_d(nA)$ $C(\mu g/ml)$	$I_{d1}$	$I_{d2}$	$I_{d3}$	$I_{d4}$	$I_{d5}$	$\bar{I}_d$	S	$\frac{S}{\bar{I}_d} \times 100$
0.8	17	20	20	17	17	18.2	1.64	9.01
1.6	32	32	34	33	34	33.0	1.00	3.03
2.4	44	42	45	40	46	43.4	2.41	5.55
3.2	60	56	59	55	57	57.4	2.07	3.61
4.0	73	69	72	68	69	70.2	2.17	3.09

#### 4.1.3. Et Ürünü Örneklerinin Çalışılması

Yöntem , piyasada mevcut değişik markalardan üçer adet salam, sosis ve sucuk örneğinde nitrat ve nitrit tayini için uygulandı. Nitrat iyonu miktarları kg ette mg  $\text{NaNO}_3$  cinsinden , nitrit iyonu miktarları ise kg ette mg  $\text{NaNO}_2$  cinsinden hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Cetvel 4.2 'de toplu halde görülmektedir.

**Cetvel 4.2.İşlem Görmüş Et Ürünlerinde Bulunan  $\text{NaNO}_3$  ve  $\text{NaNO}_2$  Miktarları (mg/kg)**

Örnek	Salam 1	Salam 2	Salam 3	Sosis 1	Sosis 2	Sosis 3	Sucuk 1	Sucuk 2	Sucuk 3
$\text{NaNO}_3$	11.53	32.9	-----	32.9	43.53	-----	546.73	62.25	207.28
$\text{NaNO}_2$	60.70	73.74	26.71	69.28	47.70	31.03	-----	-----	-----

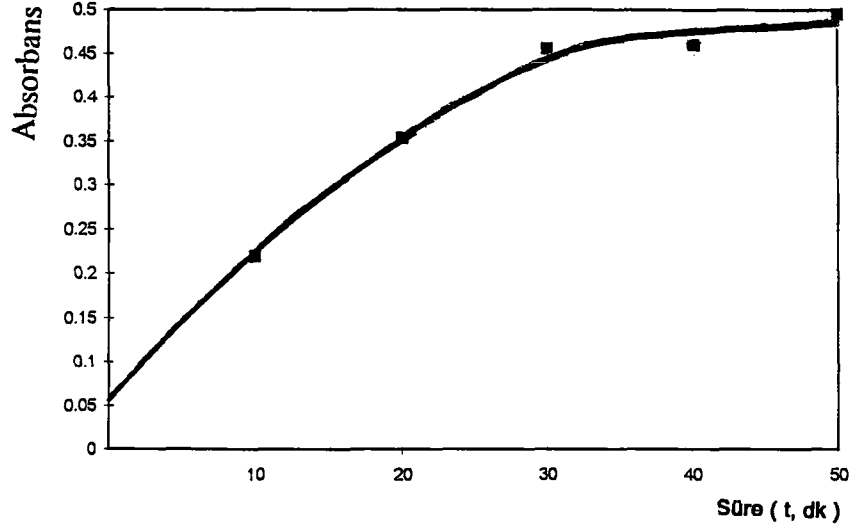
## 4.2. AAS TAYİN YÖNTEMİ

### 4.2.1 Yöntemin Optimum Koşulları

Bölüm 3.4.2.1' de belirtildiği şekilde çalışılarak optimum deney koşulları aşağıdaki şekilde belirlendi.

#### Isıtma Süresi

0.0137 g sodyum nitrat ile 0.1 N hidroklorik asitli ortamda değişik ısıtma süreleri denenerek Bölüm 3.4.2.1 'deki işlem tekrarlandı. Bu işlemler sonucunda optimum ısıtma süresi otuz dakika olarak belirlendi ( Şekil 4.3 ).



**Şekil 4.3. Farklı Isıtma Sürelerindeki Absorbans Değerleri**

#### **Sülfamik Asit / Hidroklorik Asit Oranı**

Nitrit iyonunun nitrata benzer şekilde asitli ortamda kadmiyumu yükselteceği düşüncesiyle bu iyonun ortamdaki uzaklaştırılması gerektiği düşünüldü. Bu amaçla Bölüm 3.4.2.1 'de anlatılan işlem , nitrit iyonu değişik miktarlarda sülfamik asit içeren ortamlarda giderildikten sonra tekrarlandı. Bunun için 0.0111g katı sodyum nitrit ile sülfamik asitin 0.1 N hidroklorik asitteki %2 'lik çözeltisinin farklı miktarlarıyla denendi. Buna göre optimum miktarların ( absorbansın sıfıra düştüğü miktar ) 6 ml sülfamik asit + 4 ml 0.1 N hidroklorik asit karışımı olduğu belirlendi ( Cetvel 4.3 ).

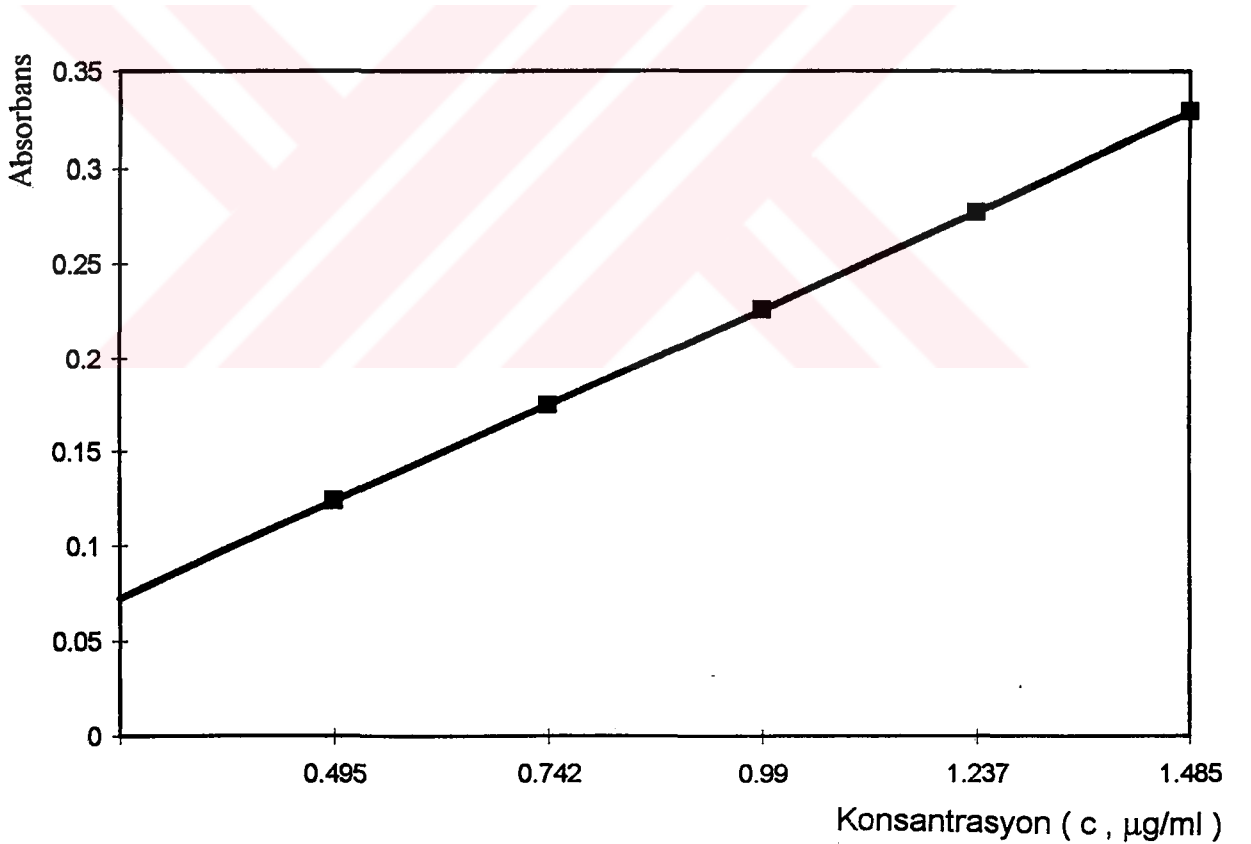
**Cetvel 4.3. Nitrit Giderilmesinde Sülfamik Asit / Hidroklorik Asit Oranlarıyla**

#### **Absorbans Değişimi**

Sülfamik asit / HCl Oranları	10:0	8:2	6:4	4:6	2:8
Absorbans	0.002	0.004	0.005	0.015	0.019

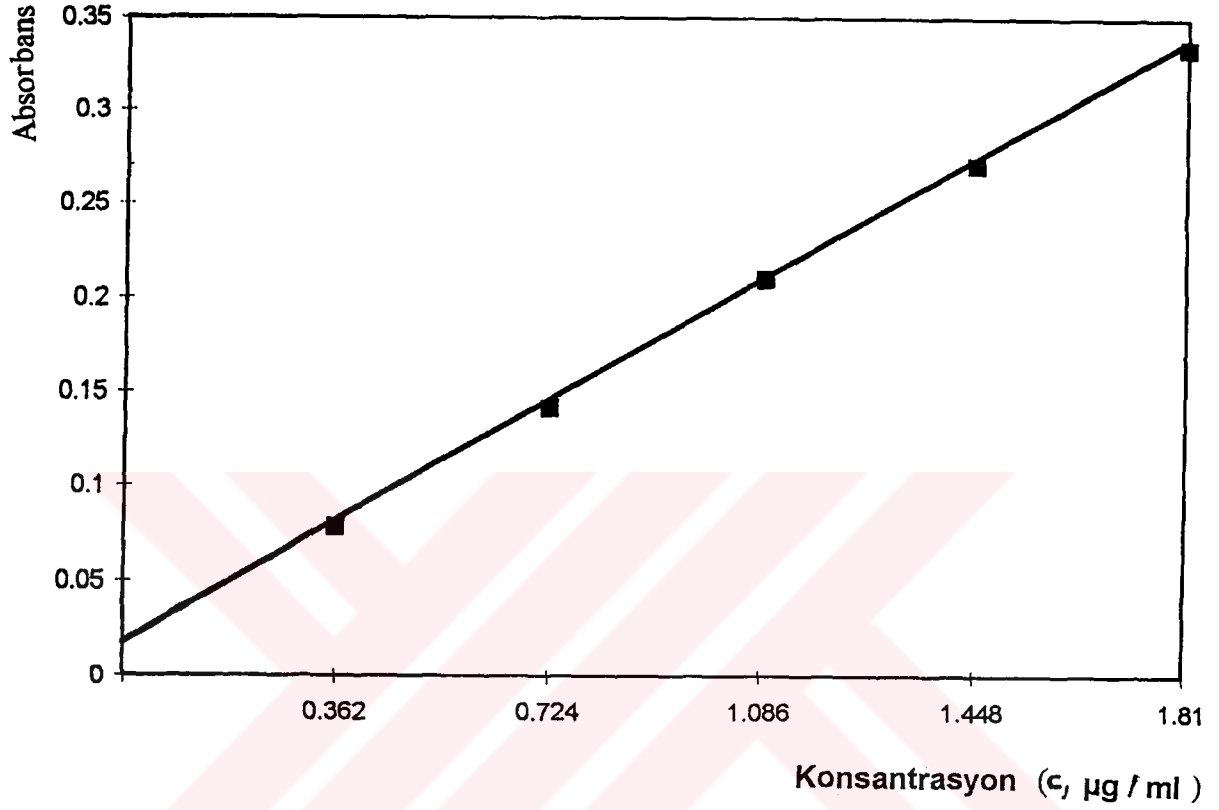
#### 4.2.2. Ölçü Eğrisi

Son çözeltilerde  $0.1 - 0.5 \mu\text{g/ml NO}_3^-$  iyonu (  $0.362 - 1.810 \mu\text{g/ml Cd}^{2+}$  ) içeren çözeltilerle 3.4.2.2. b 'ye göre çalışılarak kadmiyumun atomik absorptans değerleri okundu. Ortalama absorptans değerleri ile kadmiyum konsantrasyonu arasında bir ölçü eğrisi hazırlandı ( Şekil 4.5 ). Nitrat iyonunun  $0.1 \text{ N}$  hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyumu , kadmiyum iyonuna yükseltgeme verimini belirlemek amacıyla saf bir kadmiyum granülünü asitte çözerek kadmiyum miktarı bilinen sulu çözeltilerle Bölüm 3.4.2.2. a 'ya göre çalışılarak diğer bir ölçü eğrisi hazırlandı ( Şekil 4.4 ). Bu iki doğrunun denklemleri hesaplanarak eğimleri birbirlerine oranlandığında bu oranın  $0.8560$  olduğu belirlendi. Bu sonuç , indirekt nitrat analizindeki işlemlerde kadmiyumun geri kazanım oranının  $\% 85.60$  olduğunu göstermektedir.



$$A = 0.2069 c + 0.0214 \quad (r = 0.9999)$$

Şekil 4.4. AAS İle Saf Kadmiyum ( II ) 'ye Ait Ölçü Eğrisi



$$A = 0.1771 c + 0.0135 \quad (r = 0.9999)$$

**Şekil 4.5 AAS İle Nitrat Tayinine Ait Ölçü Eğrisi**

Yukardaki sonuçlara dayanılarak çalışma yönteminde Şekil 4.5 'deki ölçü eğrisinin esas alınmasına karar verildi. Bu eğrinin regresyon analizine ait parametreler Cetvel 4.4 'de verilmiştir.

**Cetvel 4.4. Nitrat İyonunun AAS ile İndirekt Tayini İçin Hazırlanan Ölçü Eğrisine Ait Değerler**

Kadmiyum Konsantrasyonu (µg/ml)	A1	A2	A3	A Ortalama ( $\bar{A}$ )	Standart Sapma (S)	% Standart Sapma (%S)
0.362	0.078	0.079	0.077	0.078	$1.10^{-3}$	1.28
0.724	0.140	0.142	0.141	0.141	$1.10^{-3}$	0.71
1.086	0.206	0.206	0.207	0.206	$5.77.10^{-4}$	0.28
1.448	0.270	0.271	0.269	0.270	$1.10^{-3}$	0.37
1.810	0.335	0.334	0.334	0.334	$5.77.10^{-4}$	0.17
$A = 0.1771 c + 0.0135$				$r = 0.9999$		

#### 4.2.3. Sebze Örneklerinin Çalışılması ve İstatistik Değerlendirme

AAS yönteminin sebzelerde nitrat tayini için uygulanabilirliği beş ayrı sebze türünde denendi. Bu amaçla patates , domates , pazı , turp ve havuç örnekleri ile çalışıldı. En son çözeltide iki kez miktarı belli kadmiyum çözeltisi ilave edilerek standart katma yöntemi uygulandı. Herbir örnekle tüm işlemler iki kez tekrarlandı. Ölçü eğrisi üzerinden bulunan kadmiyum konsantrasyonlarının ortalaması , standart katmalar sonucu hesaplanan kadmiyum konsantrasyonlarının ortalaması ile t testi uygulanarak % 95 güvenilirlik düzeyinde karşılaştırıldı. İki sonucun arasındaki farkın anlamlı olmadığı belirlendi. Sonuçlar Cetvel 4.5 'de verilmiştir.

**Cetvel 4.5.** Sebze Örneklerinde Kadmium Üzerinden Nitrat Tayini ve İstatistik Değerlendirme  
( t tablo = 3.182 , p = 0.05 )

Örnek	Ortalama Absorbans	Kons. (µg/ml)	Katılan Cd <sup>2+</sup> Kons. (µg/ml)	Hesaplanan Kons. (µg/ml)	Ortalama Kons. (µg/ml)		Standart Sapma (S)	$t = \frac{ \mu - \bar{x} }{s/\sqrt{n}}$	Sebzede ki Miktar (mg/kg)	
					Hesaplanan ( $\bar{X}$ )	Gerçek ( $\mu$ )			Cd <sup>2+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Patates (Tartım 1)	0.157	0.825	0							
	0.226		0.362	0.824						
	0.290		0.724	0.855						
Patates (Tartım 2)	0.147	0.756	0							
	0.214		0.362	0.794						
	0.279		0.724	0.806	0.820	0.790	0.026	2.308	8.200	2.265
Domates (Tartım 1)	0.124	0.635	0							
	0.196		0.362	0.666						
	0.263		0.724	0.676						
Domates (Tartım 2)	0.142	0.745	0							
	0.212		0.362	0.734						
	0.276		0.724	0.767	0.711	0.690	0.048	0.875	14.220	3.928
Pazı (Tartım 1)	0.182	0.953	0							
	0.248		0.362	0.998						
	0.313		0.724	1.006						
Pazı (Tartım 2)	0.194	1.016	0							
	0.260		0.362	1.064						
	0.327		0.724	1.056	1.031	0.984	0.034	2.781	51.550	14.240



**Cetvel 4.5. Sebze Örneklerinde Kadmium Üzerinden Nitrat Tayini ve İstatistik Değerlendirme**  
( t tablo = 3.182 , p = 0.05 )

Örnek	Ortalama Absorbans	Kons. (µg/ml)	Katılan Cd <sup>2+</sup> Kons. (µg/ml)	Hesaplanan Kons. (µg/ml)	Ortalama Kons. (µg/ml)		Standart Sapma (S)	$t = \frac{ \mu - \bar{x} }{s/\sqrt{n}}$	Sebzede ki Miktar (mg/kg)	
					Hesaplanan ( $\bar{X}$ )	Gerçek ( $\mu$ )			Cd <sup>2+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Turp (Tartım 1)	0.195	1.022	0		1.005	0.982	0.086	0.535	50.250	13.881
	0.261		0.362	1.070						
	0.325		0.724	1.086						
Turp (Tartım 2)	0.177	0.942	0		0.624	0.612	0.085	0.282	31.200	8.619
	0.247		0.362	0.915						
	0.312		0.724	0.949						
Havuç (Tartım 1)	0.130	0.680	0		0.624	0.612	0.085	0.282	31.200	8.619
	0.198		0.362	0.692						
	0.264		0.724	0.702						
Havuç (Tartım 2)	0.105	0.545	0		0.624	0.612	0.085	0.282	31.200	8.619
	0.176		0.362	0.535						
	0.239		0.724	0.567						

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada nitrat iyonunun DP polarografik ve AAS iki indirekt tayin yönteminin optimum koşulları saptandı ve bunların değişik materyallere uygulanabilirliği incelendi.

DP polarografik yöntem nitrat iyonunun derişik sülfürik asitli ortamda sıvı fenol ile oluşturduğu o-nitrofenolün polarografik olarak o-nitrozofenole indirgenmesine dayanmaktadır ( Bartik and Kupka , 1960 ). Bu çalışmada ilk olarak 2.0 µg/ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonu içeren sulu çözelti ile DP polarogram koşulları belirlendi. Daha sonra yöntem işlenmiş et örneklerinde nitrat ve nitrit tayininde uygulandı. Tayin için gerekli ölçü eğrisi matriks etkisini gidermek amacıyla homojenize edilmiş dana etine belli miktar sodyum nitrat kattıktan ve proteinler amonyum alüminyum sülfat ile sıcakta çöktürüldükten sonra son konsantrasyonu 0.8 - 4.0 µg/ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonu olan çözeltilerle çalışılarak hazırlandı. İşlem görmüş et ürünlerine nitrat iyonu yanında nitrit iyonu da katıldığından bu iyonun da saptanması önem taşımaktadır. Bu amaçla et ürünleri doğrudan analiz edilerek nitrat iyonu ; hidrojen peroksit ile nitritin nitrata yükseltgenmesi sonunda toplam nitrat iyonu saptandı. İki sonuç arasındaki farktan nitrat iyonu hesaplandı. Sonuçlar kg et ürününde mg sodyum nitrat ve sodyum nitrit cinsinden verildi. Çalışmalar sonunda incelenen sucuk , sosis ve salam örneklerinde sodyum nitrat ve sodyum nitrit düzeyleri bir örnek hariç , bu ürünler için bildirilen yasal sınırları ( sodyum nitrat cinsinden sucuk gibi fermente et ürünlerinde 500 mg/kg et ; salam , sosis gibi ısı işleme görmüş et ürünleri 300 mg/kg et ; sodyum nitrit cinsinden salam , sosis gibi ısı görmüş et ürünlerinde 150 mg/kg ettir ) altında bulunmuştur. Bu yöntemle et ürünlerinin çalışılması ön işlemler dışında on beş dakika sürede tamamlanmaktadır ve tayin sınırı 0.07 µg/ ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> düzeyindedir. Ön işlemler

ve çalışma süresi yönünden yöntem , ofisiyal yöntemdekine (JAOAC , 1980 ; TSE 1974 ) kıyasla daha avantajlı bulunmuştur.

AA spektrofotometrik yöntem nitrat iyonunun seyreltik hidroklorik asitli ortamda elementel kadmiyumu , kadmiyum ( II ) iyonuna yükseltgenmesine ve oluşan kadmiyum ( II ) iyonunun 228.8 nm 'deki atomik absorpsiyonunun ölçülmesine dayanmaktadır( Hassan,1981 ) . Bu reaksiyon CO<sub>2</sub> atmosferinde yarım saat süreyle kaynatılarak gerçekleştirildi. Reaksiyon sonunda 1 mol nitrat iyonu için 2 mol kadmiyum iyonu açığa çıkmakta , bu durum hassasiyeti artırmaktadır. Ayrıca bu yöntem klorür , fosfat , sülfat gibi birçok anyonun varlığında girişim olmaksızın çalışabilmekte ve oluşan kadmiyum iyonu çözeltisi ile AAS yanında polarografik , EDTA ile potansiyometrik ve titrimetrik yöntemlerle çalışma olanağı bulunmaktadır. Bunun yanında belirteçler dayanıklı olup özel bir saklama ve kullanma koşulu bulunmamaktadır.

Daha önce sulu çözeltilerde nitrat iyonu tayini için geliştirilen yöntem tarafımızdan sebzelere uygulandı. Bu amaçla katı sodyum nitrat ile 0.1 N hidroklorik asitli ortamda , CO<sub>2</sub> atmosferinde kadmiyum granülü ile redoks reaksiyonu gerçekleştirilerek ve aynı çözücü ile gerekli seyreltmeler yapılarak 0.1 - 0.5 µg/ml NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iyonu ( 0.362 - 1.810 µg/ml Cd<sup>2+</sup> ) aralığında ölçü eğrisi hazırlandı. Ayrıca miktarı belli saf kadmiyum granülünün derişik HNO<sub>3</sub> : H<sub>2</sub>O ( 1:1 ) karışımında çözülmesi ve 0.1 N hidroklorik asitle seyreltilmesiyle elde edilen standart kadmiyum çözeltileriyle ölçü eğrisi hazırlandı. İki ölçü eğrisinin regresyon analizleriyle bulunan denklemlerindeki eğimleri oranlanarak , indirekt yöntemdeki geri kazanımın %85.60 olduğu belirlendi. Bu nedenle sebze örneklerinin çalışılmasında sodyum nitrat üzerinden hazırlanan ölçü eğrisi kullanıldı. Homojenize edilmiş patates , domates , pazı , turp ve havuç örneklerinden ikişer tartım alınarak ölçü eğrisinden bulunan kadmiyum içeriklerinden nitrat miktarına geçildi. Sebzelerde nitrat yanında nitritde bulunabileceği ve bu iyonun da kadmiyum ile benzer reaksiyonu vereceği düşüncesiyle örnekler % 2 'lik sülfamik asit/0.1 N hidroklorik asit karışımıyla ısıtıldıktan sonra genel işlemlere geçildi. Sebze örneklerinde matriks etkisinin varlığını araştırmak üzere standart katma yöntemi uygulandı. Bunun için herbir tartım için son çözeltilere konsantrasyonu bilinen kadmiyum çözeltilerinden iki kez katma yapılarak kadmiyum konsantrasyonları hesaplandı. Her örnek için hesaplanan dört sonucun ortalaması , ölçü eğrisinden bulunan ortalama değerle t testi yönünden karşılaştırıldı. Sonuç olarak standart katma ve ölçü eğrisinden bulunan sonuçlar arasında anlamlı bir fark olmadığı , dolayısıyla sebzelerde sonuçları etkileyecek düzeyde bir matriks etkisi bulunmadığı ortaya çıktı. Bu çalışmada tüm işlemler yaklaşık bir saat kadar bir sürede yapılabilmekte ve deproteinizasyon işlemine gerek olmayışı analiz süresinin kısılması bakımından bir avantaj sağlamaktadır. Ayrıca oluşan kadmiyum ( II ) çözeltileri uzun süre dayanıklı olduğundan bu da bir başka avantaj olarak değerlendirilmiştir. AAS yönteminin sebzeler için uygulanması ilk kez tarafımızdan gerçekleştirilmiştir.

## KAYNAKLAR

Adamowicz, S., Ballino, N., Mars, S. and Otto, C., 1980. " Comparison of Different Techniques of Nitrate Determination in Soils and Vegetables.", *Ann. Nutr. Aliment.*, 34 (5-6), 877-82. Ref. C.A. 1981, 95 , 95563 j.

Adriane, A. and Robbers, J.E., 1969. "Determination of Nitrite and Nitrate in Some Horticultural and Meat Products and in Samples of Soil." *J. Sci. Food Agr.*, 20(6), 321-5. Ref. C.A. 1969, 71, 19443 J.

Arneht, W. and Herold , B., 1992. "Meat Nitrite and Nitrate Contents. Determination by Ion Chromatography." , *Fleischwirtschaft* , 72 (6), 901-4., Ref. C.A. 1993, 118 , 79547v.

Aycan, Ş., 1994. "Polarografik ve Voltametik Teknikler.", Yıldız Teknik Üniversitesi Yayınları, İstanbul.

Barbieri, G., Sala, G., Gavioli, E. and Beneventi, G., 1979. "Nirite and Nitrate Determinations in Meats.", *Boll. Chim. Unione Italy Lab. Prov. Pate Sci.*, 5(4), 611-16. Ref. C.A. 1980, 92, 127031r.

- Barbieri, G., Gavioli, E. and Beneventi, G., 1980. "Determination of Nitrites and Nitrates in Meat Products.", Riv. Soc. Ital. Sci. Aliment, 9(6), 425-6. Ref. C.A. 1981, 95, 5220 t.
- Barbieri, G., Gavioli, E., Sala, G. and Benevent, G. P., 1983. "Simultaneous Determination of Nitrites and Nitrates in Food Products of Animal and Vegetable Origin." , Ind. Aliment., 22 (2), 84-6.
- Bartik, M. and Kupka, J., 1960. "Polarographische Nitrat- bestimmung im Biologischen Material .", Collect . Czechoslov. Chem. Commun., 25, 3356-62.
- Berezhnova, V.V. and Arustamyan, M.A., 1984. "Determination of Nitrate Nitrogen in Vegetable and Melon Crops Using Ion-Selective Electrodes." , Agrokimiya, (7), 110-3. Ref. C.A. 1984, 101, 109568 w.
- Boese, S.W., Archer, V.S. and O'Laughlin, J.W., 1977. "Differential Pulse Polarographic Determination of Nitrate and Nitrite.", Anal. Chem. , 49, 479-84.
- Bousset, J., 1980. "The Function of Mercury Chloride in Nitrite Determinations." Fleischwirtschaft, 60(7), 1325-6. Ref. C.A. 1980, 93, 130713r.
- Branca, P., Ricottilli, F. and Spagnolini, G.P., 1980. " Polarographic Determination of Nitrates in Meat Products and Other Foods .", Boll. Chim. Unione Ital. Lab. Prov., Parte Sci., 6(6), 385-95.
- Braun, R.D. and Loverso, M.R., 1979. "The Electrochemical Reaction of Nitrate in N, N-Dimethylformamide.", Talanta, 26, 185-8.
- Buldini, P.L.; Ferri, D., Pauluzzi, E. and Zambianchi, M., 1984. "Differential Pulse Polarographic Determination of Nitrate and Nitrite in Nuclear Wastes.", Mikrokim Acta, 1 (1-2), 43-51. Ref. C.A. 1984, 100, 93039 r.
- Canlıca, M., 1994. "Çeşitli Besin Maddelerindeki Nitrat ve Nitrit iyonlarının Spektrofotometrik Yöntemle indirekt Tayini." Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Cemeroğlu, B. ve Doğan, A., 1978., " Pazı Yapraklarında Nitrat Miktarı.", Doğa II, 72-4.
- Choi, K.K. and Fung, K.W., 1980. " Determination of Nitrate and Nitrite in Meat Products by Using a Nitrate Ion-Selective Electrode." , Analyst , 105 (1248), 241-5. Ref. C.A. 1980, 93, 44035 q.
- Chow, D.T-W. and Robinson, R.J., 1953. " Polarographic Determination of Nitrite.", Anal. Chem., 25, 1493-6.

Collet, P., 1983." Determination of Nitrite and Nitrate in Foods.", Dtsch. Lebensm.-Rundsch ., 79 (11) , 370-5. Ref.C.A. 1984 ,100, 84305x.

Consalter, A., Rigato, A., Clamor, L. and Giandon , p., 1992. " Determination of Nitrate in Vegetables Using an Ion-Selective Electrode.", J. Food Compos. Anal., 5 (3) , 252-6. Ref. C.A. 1993, 118, 79572 z.

Eggers, N.J. and Cattle, D.L. , 1986. "High-Performance Liquid Chromatographic Method For the Determination of Nitrate and Nitrite in Cured Meat.", J. Chromatogr. , 354 , 490-4. Ref. C.A. 1986 , 104 , 147289 a.

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.

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

Gıda Maddeleri Tüzüğü, 1990, Resmi Gazete, Sayı 20541, 32.

Hamano, T., Mitsuhashi, Y., Tanaka, K., Matsuki, Y., Oji, Y. and Okamoto, S., 1983. "Applications of Nitrate Reductase For the Determination of Nitrate in Meat and Fishery Products.", 47(11), 2427-33. Ref. C.A. 1984, 100, 50101 n.

Hamm, R.E. and Withrow, C.D., 1955. "Polarographic Nitrate Determination.", Anal. Chem. 27, 1913-5.

Hartley, A.M. and Curran , D.J., 1963. " Polarographic Determination of Nitrate as 4-Nitro-2,6 -Xylenol ." , Anal.Chem. ,35, 689-92.

Hassan , S.S.M., 1981. " New Atomic-Absorption Spectrometric , Potentiometric and Polarographic Methods For the Determination of Nitrates ." , Talanta , 28 , 89-93.

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

Hemmi, H., Hasebe, K., Ohzeki, K. and Kambara, T., 1984. "Differential Pulse Polarographic Determination of Nitrate in Enviromental Materials." , Talanta , 31, 319-23.

Holak,W.and Specchio, J.J.,1992."Determination of Nitrate and Nitrite by Differential Puls Polarography with Simultaneous Nitrogen Purging.", Anal.Chem.1992,64,1313-15.

Jackson, P.E., Haddoh, P.R. and Dilli, S., 1984. "Determination of Nitrate and Nitrite in Cured Meats Using High - Performance Liquid Chromatography", *J. Chromatogr.* 295 (2), 471-8. Ref. C.A. 1984, 101, 109052 y.

JAOAC Methods, 1980. "Meat and Meat Product.", 63, 376.

Johnson, M.G. and Robinson, R.J., 1952. *R.J. Anal. Chem.*, 24, 366. Ref. Chow, D.T-W. and Robinson R.J., 1953. "Polarographic Determination of Nitrite.", *Anal. Chem.*, 25, 1493-6.

Kato, Nakahide, Yoshikiyo, K., Nakano, K. and Tanaka, K., 1983. "Polarographic Determination of Nitrate and Nitrite Ions By Catalytic Wave of Vanadium(IV) - Cyclohexanediaminetetraaceto Complex.", *Bunseki Kagaku*, 32(2). 139-41. Ref. C.A. 1983, 98, 136763.

Keilin, B. and Otvos, J.W., 1946. "The Polarographic Analysis of Nitrite and of Nitrite - Nitrate Mixtures.", *J. Am. Chem. Soc.*, 68, 2665-68.

Kolthoff, I.M., Horris, W.E. and Matsuyama, G., 1944. "A New Method For the Polarographic Determination of Nitrate .", *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 1782-6.

Kozhevnikova, N.V., 1977. "Polarographic Determination of Nitrate Ion .", *Sib. Vestn. S-kh. Nauki*, 7 (3), 10-4. Ref. C.A. 1977, 87, 132844j.

Krzysik, K. and Nurczyk, S., 1992. "Rapid Ionometric Determination of Nitrates and Their Routine Control in Materials For Infant Foods." , *Przem. Ferment. Owocowo-Warzy-Wny*, 36(1), 7-12. Ref. C.A., 1992. 117. 6298j.

Kurbatova, I.I. and Perepelkina, T.M., 1968. "Polarographic Determination of Nitrate Ions in Corrosive Solutions and Concretes.", *Soversh. Metod Issed. Tsew. Kamnya Betona*, 182-5. Ref. C.A. 1969, 71, 84280 t.

Kurkaev, V.T. and Syuch, M., 1972. "Polarographic Determination of Nitrate Nitrogen in Soil .", *Tr. Kuban. Sel' skokhoz. Inst.*, No:42, 108-11. Ref. C.A. 1973, 79, 125059 p.

Lemieszek-Chodorowska, K., 1977. "Determination of Nitrates and Nitrites in Food Products.", *Metody Oznaczenia Subst. Obcych Srodkach Spozyw.*, 11. Ref. C.A. 1980, 93, 6217 t.

Lox, F. and Okabe, A., 1982. "Comparison of Nitrite and Nitrate Determinations in Vegetables : Suitability for Accurate and Automated Measurements." , *J. Assoc off. Anal. Chem.*, 65 (1), 157-61.

Malingerova, N., 1959. "Polarographic Determination of Nitrate and Nitrite Used For Tracing Denitrification in Nutritive Solution.", *Sbornik Vysoke Skoly Zemedel a Lesnicke v Brne Rada A*, 85-103. Ref. C.A. 1960, 54, 4254 a.

Merz, W., Panzel, H. and Eltschka, R., 1978. "Practical Experience With The Polarographic Determination of Nitrate and Nitrite in Industrial Wastwaters.", *Von Wasser*, 51, 221-5. Ref. C.A. 1979, 91, 9116d.

Metrohm Application Bulletin No. 70/1e.

Mirna, A., Wagner, H., Kloetzer, E. and Fausel, E., 1984. "Application of Ion Chromatography in The Study of Meat and Meat Products.", *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.*, 38 (1), 18-9. Ref. C.A. 1984, 100, 155268 a.

Mishra, M.B. and Banerjee, B.K., 1973. "Microestimation of Nitrate by Polarographic Method.", *Technology*, 9(4), 396-7. Ref. C.A. 1973, 79, 114390 p.

Muir, A.D. and Soroka, J.J., 1992. "HPLC - Ion Chromatographic Analysis of Nitrate in Plant Tissues and Its Application to Sweet Clover (*Melilotus Spp.*) Seedlings.", *J. Agric. Food. Chem.* 40(9), 1602-5. Ref. C.A. 1992, 117, 146434a.

Murcia, M.A., Vera, A. and Garcia - Carmona, F., 1992. "Nitrate Level in Vegetables by Ion Chromatography.", *Biochem. Soc. Trans.*, 20(4), 371s. Ref. C.A. 1992, 117, 149617y.

Ogawa, N., Kodaiku, H. and Ikeda, S., 1986. "On the Polarographic Reduction of Nitrate Ion in The Presence of Zirconium(IV).", *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, 208(1), 117-25. Ref. C.A. 1986, 105, 104580 s.

Penchuk, Y.O., Haldna, U., Ilmoja, K. and Ivask, M., 1988. "Determination of Nitrate Ions in Vegetable Samples by Physico-Chemical Methods.", *Eesti Nsv Tead. Akad. Toim. Kehm.*, 37(3), 201-9. Ref. C.A. 1988, 109, 228876 v.

Qui, S., 1992. "Nitrate-Selective Electrode For Determination of Nitrate Contents in Foods." *Shipin Kexue*, 151, 50-4. Ref. C.A. 1993, 118, 37665 b.

Rauter, W. and Wolkerstorfer, W., 1982. "Nitrate in Vegetables.", *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 175(2), 122-4. Ref. C.A. 1982, 97, 125797 z.

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



Scaife, A. and Stevens, K.L., 1983. "Monitoring Sap Nitrate in Vegetable Crops : Comparison of Test Strips With Electrode Methods, and Effects of Time of Day and Leaf Position.", *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 14(9) , 761-71. Ref. C.A. 1983, 99 , 193736v.

Schwedt , G., Sasturain , J. and Petri , J.,1992. " Comparison of Methods of Nitrate Determination , For Example , in Potato Press Juices ." , *Dtsch . Lebensm- Rundsch.*, 87(12) , 386-9. Ref.C.A.1992, 117, 24849u.

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

Selmeci, G., Aczel, A. and Peter S., 1975. "Direct Determination of Nitrate Ions in Meat Products.", *Elelmiszervizsgalati Kozl.*, 21(4), 187-94. Ref. C.A. 1976, 84, 162969 J.

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

Silva, M., Gallego, M. and Valcarcel, M., 1986. "Sequential Atomic Absorption Spectrometric Determination Of Nitrate And Nitrite In Meats By Liquid-Liquid Extraction In A Flow-Injection System.", *Analytica Chimica Acta*, 179, 341-9.

Tanaka, A., Nose, N. and Iwasaki, H., 1982. "Spectrophotometric Determination of Nitrate in Vegetable Products Using 2-Sec-Butylphenol.", *Analyst*, 107, 190-4.

Tateo, F., Faleschini, M.L. and Fossati, M., 1982. "Exploratory Experiments On The Use of Ion Chromatography for Determination of Nitrates, Nitrites, Chlorides and Phosphates in Meat Products.", *Ind. Conserve*, 57 ( 1 ), 30-3. Ref. C.A. 1982, 97 , 70904 z.

Tokuoka, M., 1932. *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.*, 4, 444. Ref. Kolthoff, I.M., Harris , W. E. and Matsuyama , G., 1944. " A New Method For The Polarographic Determination of Nitrate.", *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 1782-6.

Tokuoka, M. and Ruzicka , J., 1934. *Ibid.*, 6 , 339. Ref. Ibid.

Trukhacheva , V.A., Zakharchuk , N.F. and Yudelevich , I.G., 1970. "Polarographic Determination of Nitrate Ion in Phosphoric Acid and Its Salts .", *Izv. Sib. Otd. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim. Nauk*, (1), 157-60. Ref. C.A. 1970, 73 , 41563m

TSE, 1974. "Et Mamülleri Laboratuvar Muayene Metotları.", TS1069.

Vdovina, T.A. and Medvedeva, N.A., 1979. "Methods of Determining Nitrites and Nitrates in Vegetables and Melon Production.", *Agrokhimiya*, (1), 123-8. Ref. C.A. 1979, 90, 119823 u.

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

Yarnitzky, M. N.C. and Ariel, M., 1990. "Determination of Nitrate With a Flow-Injection System Combining Square-Wave Polarographic Detection with On-Line Deaeration.", *Analytica Chimica Acta*, 234, 475-78.

Yu, J-M. and Sun, C-F., 1980. "Determination of Nitrates in Meat Products and Canned Meat by Nitrate-Selective Electrode.", *Shih P' in Yu Fa Hsiao Kung Yeh*, 6 , 16-24. Ref. C.A. 1981 , 95, 131030 u.

Zhu,R.,Wu,Y.and Dong,W.,1991. "Determination of Several Inorganic Anions in Vegetables With Ion Chromatography ." , *Shanghai Huanjing Kexue* , 10(10) , 25-7. Ref. C.A. 1992, 117,46830h.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Doğum Tarihi : 22 Ocak 1972

Doğum Yeri : İstanbul

İlkokul : 1977 - 1982 , Fatih İlkokulu

Ortaokul : 1982 - 1985 , Fatih Kız Lisesi

Lise : 1985 - 1988 , Fatih Kız Lisesi

Üniversite : 1988 - 1992 , Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi  
Kimya Bölümü

Yüksek Lisans : 1992 - , Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı Anorganik Kimya Programı

1994 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Anorganik Kimya Bilim Dalı 'nda F.B.E. bağlı Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu göreve devam etmekteyim.