

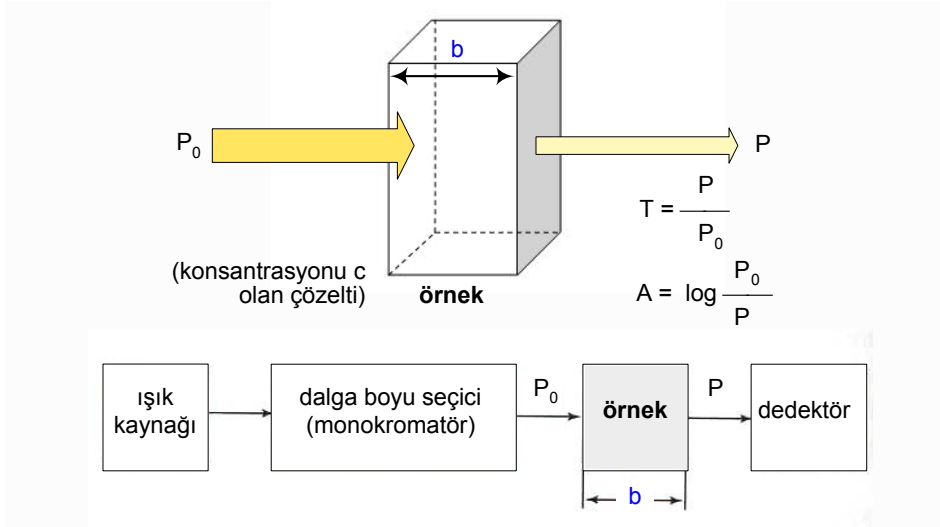
ABSORBSİYON SPEKTROSKOPİSİ

Ref. e-makaleleri, Enstrümantal Analiz, Ultraviyole ve Görünür (Visible) Spektrofotometre

Geçirgenlik (Transmittans)

Şekil-1'de paralel bir ışın demetinin, kalınlığı b ve konsantrasyonu c olan absorblayıcı bir çözülden geçişi gösterilmiştir. Işının başlangıçtaki P_0 gücü, fotonların ortamdaki absorblayıcı taneciklerle etkileşimi sonucunda P 'ye düşer. Çözeltinin "geçirgenliği" T (%), gelen ışının çözelti tarafından geçirilen kesridir.

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (1)$$



Şekil-1: Bir ışın demetinin absorblayıcı çözülden geçerken zayıflaması

Absorbans

Bir çözeltinin absorbansı aşağıdaki denklem ile verilir. Geçirmenin tersine, gelen ışın demetinin gücü arttıkça absorbans değeri de artar.

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} \quad (2)$$

Absorbtivite ve Molar Absorbtivite

Absorbans, ışının geçtiği ortamın yol uzunluğu (path length) ve absorblayıcı tanelerin konsantrasyonu ile orantılıdır.

$$A = a b c \quad (3)$$

Burada a orantı sabitidir ve "absorbtivite" adı verilir. a'nın büyüklüğü b ve c için kullanılan birimlere bağlıdır. Konsantrasyon mol/lit ve hücre (cell) kalınlığı cm olarak alındığında, absorbtiviteye "molar absorbtivite" denir, ve ϵ harfi ile gösterilir. Bu durumda absorbans ifadesi aşağıdaki şekli alır.

$$A = \epsilon b c \quad (4)$$

P ve P₀'ın Deneysel Olarak Ölçülmesi

Denklem (1) ve (2) kimyasal analizlerde doğrudan uygulanamazlar. P ve P₀ 'ın ölçülmesi, test edilen çözeltinin bir kap içinde bulunması zorunluluğu nedeniyle doğru olarak yapılamaz. Işın ile numune kabının duvarları arasındaki etkileşim sonucunda, her iki yüzeyde de yansıma ve absorpsiyon yoluyla kayıplar olur. Ayrıca, ışın demeti çözeltilerden geçerken büyük moleküllerin neden olduğu saçılma olayıyla da gücünden kaybeder. Yansıma kayıpları da önemli miktarlarda olabilir; örneğin görünür ışın havadan cama veya camdan havaya dikey olarak geçerken yansıma kaybı % 4 dür. Bu etkileri gidermek için, P ve P₀ ölçümlerinde birbirinin aynı olan iki kap kullanılır. Bunlardan absorblayıcı çözeltinin bulunduğu kaptan geçen ışının gücü P olarak, sadece çözücünün bulunduğu kaptan geçen ışının gücü de P₀ olarak ölçülür. Böylece gelen ışının kap duvarları nedeniyle uğrayacağı kayıplar her iki halde de aynı olacağından P₀/P oldukça doğru olarak ölçülür; gerçek absorbansa çok yakın olan deneysel denklem aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$A = \log \frac{P_{\text{çözücü}}}{P_{\text{çözelti}}} = \log \frac{P_0}{P}$$

Tablo-1: Absorbsiyon Ölçmelerinde Kullanılan Önemli Terimler ve Semboller

Terim ve Sembol (ASTM)	Tanım	Alternatif terim ve sembol
Işın gücü, P, P ₀	Işının enerjisi, erg (ışın, 1 cm ² dedektör/s)	Işının şiddeti, I, I ₀
Absorbans, A	log P ₀ /P	Optik yoğunluk, D, Sönme, E
Geçirgenlik, T	P/P ₀	Geçme, T
Işın yolu, b, cm	-	l, d
Absorbivite, a, g/L	A / b c	Sönme katsayısı, k
Molar absorbivite, mol/L	A / b c	Molar sönme katsayısı

Geçirgenlik (Transmittans) ve Absorbans Ölçülmesi

Geçirgenlik ve absorbans ölçmelerinin yapıldığı bir enstrumanın dedektörünün elektrik çıkışı G aşağıdaki denklemle verilir. K', transdusere ışın çarpmadığı zamanki "kara akım (dark current)", K oranı sabitidir.

$$G = KP + K' \quad (5)$$

Dedektörden çıkan elektrik enerjisi sinyalleri okuyucuya (veya kaydediciye) gelir. Bu tip enstrumanların çoğunda okuyucu skalası doğrusaldır ve T, % 0-100 aralığında olacak şekilde geçirgenlik değerine göre kalibre edilmişlerdir. Geçirgenlik değerinin ölçülmesi üç kademede gerçekleşir. İlk olarak gelen ışın demetinin önüne bir kapak (engel) konularak dedektöre girmesi önlenir ve bu halde okuyucu ibresi sıfıra ayarlanarak gelen elektrik sinyalleri giderilir; bu kademeye "ölü akım" veya "T=% 0 ayarı" denir. Bundan sonra ışın demetinin önünden kapak kaldırılır ve ışının içinde çözücü bulunan hücreden geçmesi sağlanır ve okuyucu ibresi 100'e ayarlanır; bu kademe "T = %100 ayarı"dır; bu ayarlamayla kaynağın çıkış gücü elektriksel olarak artırılmış veya azaltılmıştır. Alternatif olarak, ayarlanabilir bir diyafram (veya bir kafes) veya optik takoz kullanılarak da ışın demetinin gücü değiştirilebilir. İkinci kademede yapılan ayarlamadan sonra Denklem(5) aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$G_0 = 100 = K P_0 + 0.00$$

Ölçme işleminin son kademesinde solvent hücresi çıkarılarak yerine örnek hücresi konur. Okuyucudan alınan değer

$$G = KP + 0.00 \quad \text{dır.}$$

Bu denklem birinciye bölünerek,

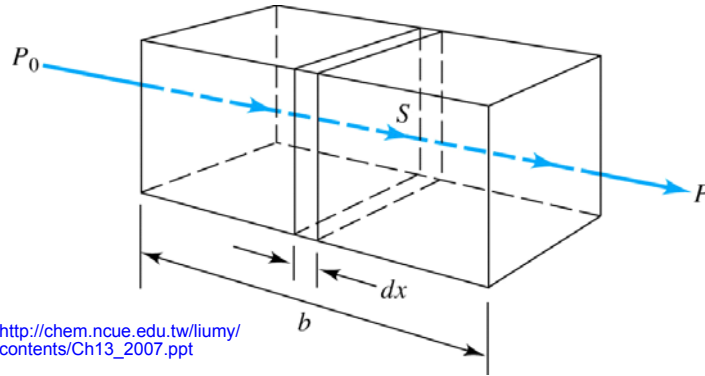
$$G = \frac{P}{P_0} 100 = T \times 100$$

eşitliği çıkarılır. Geçirgenlik yüzdesi doğrudan okuyucudan gözlenir. Absorbsiyon skalası da aynı cihaz üzerinde bulunabilir.

Beer Kanunu

Absorbtivite ve molar absorbtivite eşitlikleri ($A = a b c$, ve $A = \epsilon b c$) "Beer kanununun" birer ifadesidir. Bu bağıntıları mantıklı bir şekilde açıklayabiliriz.

Şekil-2'de görüldüğü gibi absorblayıcı bir blok (katı, sıvı, veya gaz) düşünelim; blok içinde n tane absorblayıcı tanecik (atomlar, iyonlar veya moleküller) bulunsun. Bloğun yüzeylerinden birine dik olarak P_0 gücünde paralel bir monokromatik (tek renkli) ışın demeti gönderildiğinde ışın yüzeye çarpar, b uzunluğundaki absorblayıcı ortamdan geçer, ve gücü P ye düşmüş olarak bloku terk eder.



Şekil-2: Başlangıç gücü P_0 olan bir ışının konsantrasyonu c mol/L, uzunluğu b olan absorblayıcı bir çözülden geçerken zayıflaması ($P < P_0$)

Bloğun alanı S ve kalınlığı dx (bölünemeyecek kadar küçük bir kalınlık) olan bir kesitini ele alalım. Bu kesitte dn tane absorblayıcı tanecik bulunduğunu ve her bir taneciğin de fotonların yakalandığı bir yüzey olduğunu düşünelim.

Eğer bir foton tesadüfen bu yüzeylerden birine ulaşırsa hemen absorblanacaktır. Kesit içindeki yakalayıcı yüzeylerin toplam alanı dS ile gösterilirse, yakalayıcı alanların toplam alana oranı dS/S 'dir; bu oran, fotonların kesit içinde ortalama yakalanma ihtimaliyetini gösterir.

Kesite giren ışın demetinin gücü P_x , her santimetrekarede 1 saniye içinde bulunan fotonların sayısı ile orantılıdır. dP_x her saniyede tutulan miktarı gösterir, absorblanan kesir $-dP_x / P_x$ dir. Bu oran fotonların ortalama yakalanma ihtimaliyetine eşittir. Böylece,

$$-\frac{dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S} \quad (6)$$

bağıntısı yazılabilir. dS , kesitteki taneciklerin ışını yakalama yüzeylerinin toplam alanı olduğundan taneciklerin sayısı ile orantılı olmalıdır.

$$dS = a \, dn \quad (7)$$

dn taneciklerin sayısı ve a orantı sabitidir, Orantı sabitine "yakalama kesiti" denir. (6) ve (7) denklemleri birleştirilerek sıfır ve n arasındaki toplamı alınır.

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_{n_0}^n \frac{a \, dn}{S}$$

İntegrasyondan sonra bu ifade aşağıdaki şekilde yazılır.

$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{a \, n}{S}$$

Logaritma 10 tabanına dönüştürülür ve işaretin değiştirilmesi için kesir ters çevrilerek aşağıdaki Denklem (8) elde edilir.

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{a \, n}{2.303 \, S} \quad (8)$$

Burada n , blok içindeki taneciklerin toplam sayısıdır. Kesitin alanı S , bloğun hacmi V ve uzunluğu b ile tarif edilir.

$$S = \frac{V}{b} \text{ cm}^2 \quad (8) \text{ denkleminde } S \text{ yerine } V/b \text{ konularak,}$$

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{a n b}{2.303 V} \quad (9)$$

ifadesi çıkarılır. Burada n/V her santimetre karedeki tanecik sayısıdır ve birimi konsantrasyon birimleridir. n/V , mol/L cinsinden ifade edilebilir,

$$c = \frac{n \text{ tanecik}}{6.02 \times 10^{23} \text{ tanecik/mol}} \times \frac{1000 \text{ cm}^3 / \text{L}}{V \text{ cm}^3} = \frac{1000 n}{6.02 \times 10^{23} \times V} \text{ mol/L}$$

Bu eşitlik Denklem(9) ile birleştirilirse

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6.02 \times 10^{23} \times a b c}{2.303 \times 1000} \quad \text{eşitliği çıkarılır}$$

Denklemdaki sabitler ϵ terimi içine alındığında Beer kanunu elde edilir.

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon b c = A \quad (10)$$

Beer kanunu birden fazla absorblayıcı maddenin bulunduğu çözeltilere de uygulanabilir. Çözeltide bulunan tanecikler arasında herhangi bir etkileşim olmadığı kabul edilerek çok maddeli bir sistemdeki toplam absorbsiyon:

$$A_{\text{toplam}} = A_1 + A_2 + \dots + A_n \quad (11)$$

şeklinde yazılır; 1, 2,..., n, absorblayıcı maddelerin türlerini gösterir.

Beer Kanununun Uygulanmasında Sınırlamalar

Absorblayıcı maddelerin sabit bir konsantrasyonunda, absorbans (A) ve yol uzunluğu (b) arasında doğrusal bir orantı vardır ve istisnası yoktur. Diğer taraftan, b nin sabit olması halinde absorbans ve konsantrasyon (c), arasında doğrusal bir orantı olması beklenir. Bu durum vardır, ancak orantının doğrusallıktan sapması ile de çok sık karşılaşılır. Bu sapmaların bazıları olayın temelini oluştururlar ve kanunun gerçek sınırlarını belirlerler. Diğer bir kısım sapmalar ise ölçmelerin yapıldığı enstrumandan dolayı veya konsantrasyon değişikliklerinin kimyasal değişikliklere neden olduğu hallerde gözlenir; bunlar "kimyasal sapmalar" veya "enstrumantal sapmalar" şeklinde tanımlanırlar.

1. Beer Kanununun Gerçek Sınırları

Beer kanunu, sadece seyreltik çözeltilerin absorpsiyon davranışlarını açıklamada yeterlidir; bu anlamda sınırlayıcı bir kanundur.

Yüksek konsantrasyonlarda (genellikle 0.01M'ın üstünde) absorpsiyona neden olan tanecikler arasındaki ortalama uzaklık, her bir taneciğin komşu taneciklerin yük dağılımını etkileyebileceği bir seviyeye kadar küçülür. Bu etkileşim sonucu taneciklerin verilen bir dalga boyundaki ışını absorblama yetenekleri değişir. Etkileşmenin konsantrasyona bağlı olarak artması, absorbans ve konsantrasyon arasındaki doğrusal ilişkiyi bozarak sapmaya neden olur.

Benzer bir durumla absorblayıcı konsantrasyonunun düşük, fakat diğer maddelerin konsantrasyonlarının fazla olduğu, örneğin elektrolitler gibi, çözeltilerde karşılaşılr. Bu halde iyonların absorblayıcıya çok yaklaşması elektrostatik etkileşimle absorblayıcının molar absorbtivitesini değiştirir; seyreltmeyle bu etki azaltılabilir.

Moleküler etkileşimin 0.01M'ın altındaki konsantrasyonlarda önemli olmamasına karşın, bazı büyük organik iyon ve moleküllerde özel haller gözlenir. Örneğin metilen mavisi katyonunun 436 nm'deki molar absorbtivitesi, boya konsantrasyonunun 10^{-5} M'dan 10^{-2} M'a yükseltilmesiyle %88 oranında artar; hatta 10^{-6} M'dan küçük konsantrasyonlarda bile Beer kanununa sıkı bir bağlılık göstermez.

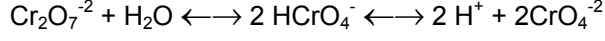
Beer kanunundan sapmalar, ϵ 'nin çözeltinin refraktif indeksine bağımlı olması hallerinde de gözlenir. Eğer konsantrasyon değişiklikleri çözeltinin refraktif indeksini (n) önemli derecede değiştiriyorsa çözelti Beer kanunundan sapar. Bu gibi sapmalarda Denklem(10)daki ϵ yerine

$$\frac{\epsilon n}{(n^2 + 2)^2}$$

koyularak düzeltme yapılabilir. Genel olarak bu düzeltme çok büyük değildir ve 0.01M'dan düşük konsantrasyonlarda nadiren etkilidir.

2. Kimyasal Sapma

Çözelti ile absorblayan tanecikler arasındaki birleşme, ayrışma, veya reaksiyon sonucunda Beer kanunundan sapmalarla karşılaşılır. Kimyasal sapmayı açıklamak için klasik bir örnek olan tamponlanmamış potasyum dikromat çözeltisindeki sapmayı inceleyelim. Çözeltideki reaksiyon aşağıdaki şekildedir.



Pek çok dalga boyunda, dikromat iyonu ile iki kromat iyonunun molar absorbtiviteleleri oldukça farklıdır. Bu nedenle, herhangi bir çözeltinin toplam absorpsansı dimerik ve monomerik hallerinin konsantrasyonları oranına bağlıdır. Bu oran seyrelmeyle önemli derecede değişeceğinden absorpsans ve toplam krom(VI) konsantrasyonu arasındaki doğrusal orantı da bozulur. Bununla beraber, dikromat iyonunun absorpsansı molar konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak kalır. Aynı durum kromat iyonları için de geçerlidir. Bu gerçek, kuvvetli asidik ortamda (dikromat iyonları hakimdir) ve kuvvetli alkali ortamda (kromat iyonları hakimdir) krom(VI) çözeltisinin absorpsansının ölçülmesiyle kolaylıkla kanıtlanabilir.

Sistemin Beer kanunundan sapsması kimyasal dengedeki kaymadan dolaydır. Bu tür sapsmalar, reaksiyonların denge sabitlerinden ve dikromat ve kromat iyonlarının molar absorbtivitelelerinden önceden doğru olarak bilinebilir.

ÖRNEK

1.02×10^{-4} M HIn çözeltisinden aynı miktarda iki örnek alınarak 0.2 N NaOH ve 0.2 N HCl ilavesiyle seyreltilir. İlave edilen NaOH ve HCl miktarları eşittir. Hazırlanmış olan iki numune, 1.00 cm'lik hücrelere konarak 430 ve 570 nm'de absorpsansları okunur (HIn için $K_a = 1.42 \times 10^{-5}$ dir).

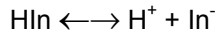
Seyreltici	A_{430}	A_{570}
0.2 M NaOH	1.051	0.049
0.2 M HCl	0.032	0.363

İndikatör konsantrasyonunun,

$$2 \times 10^{-5} \text{ M} - 16 \times 10^{-5} \text{ M}$$

aralığında değiştiği tamponlanmamış çözeltilerin iki dalga boyundaki absorpsans değerlerini bulup, grafiğini çizelim.

Bu çözeltilerin absorpsansları aşağıdaki denkleme dayanır.



$$K_a = \frac{[H^+][In^-]}{[HIn]} = 1.42 \times 10^{-5}$$

Kuvvetli baz ilavesi halinde indikatörün tamamı In^- iyonuna disosiyeye olur, yani,

$$[In^-] \cong \frac{1.02 \times 10^{-4}}{2} = 5.10 \times 10^{-5} \text{ M}$$

olur. Benzer şekilde, kuvvetli asitte

$$[HIn] \cong 5.10 \times 10^{-5} \text{ M}$$

Bu maddelerin molar absorbtiveleri ($\varepsilon = A/bc$) saptanabilir.

430 nm'de,

$$\varepsilon'_{In^-} = \frac{1.051}{1.00 \times 5.10 \times 10^{-5}} = 2.06 \times 10^4$$

$$\varepsilon'_{HIn} = \frac{0.032}{1.00 \times 5.10 \times 10^{-5}} = 6.3 \times 10^2$$

570 nm'de,

$$\varepsilon''_{In^-} = \frac{0.049}{1.00 \times 5.10 \times 10^{-5}} = 9.6 \times 10^2$$

$$\varepsilon''_{HIn} = \frac{0.360}{1.00 \times 5.10 \times 10^{-5}} = 7.12 \times 10^3$$

Tamponlanmamış $2.00 \times 10^{-5} \text{ M}$ HIn çözeltisindeki HIn ve In^- konsantrasyonlarını hesaplayalım. Disosiyasyon reaksiyonundan görüldüğü gibi

$$[H^+] = [In^-]$$

$$[In^-] + [HIn] = 2.00 \times 10^{-5} \text{ tir.}$$

Bu bağıntılar, K_a denkleminde yerine konur.

$$K_a = \frac{[In^-]^2}{2.00 \times 10^{-5} - [In^-]} = 1.42 \times 10^{-5}$$

$$[In^-]^2 + 1.42 \times 10^{-5} [In^-] - 2.84 \times 10^{-10} = 0$$

$$[In^-] = 1.12 \times 10^{-5}$$

$$[\text{HIn}] = 2.00 \times 10^{-5} - 1.12 \times 10^{-5} = 0.88 \times 10^{-5}$$

Bu hesaplamalardan sonra iki dalga boyundaki absorbanlar bulunabilir.

$$A_{430} = \varepsilon'_{\text{In}^-} b [\text{In}^-] + \varepsilon'_{\text{HIn}} b [\text{HIn}]$$

$$A_{430} = 2.06 \times 10^4 \times 1.00 \times 1.12 \times 10^{-5} + 6.3 \times 10^2 \times 1.00 \times 0.88 \times 10^{-5}$$

$$A_{430} = 0.236$$

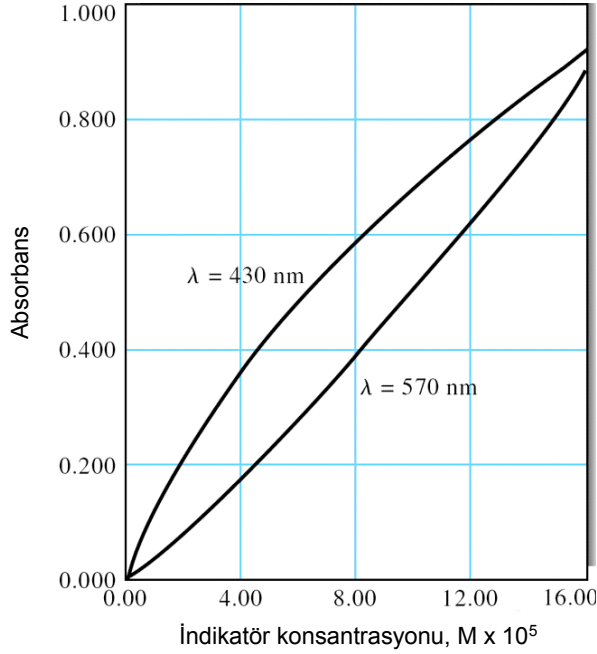
$$A_{570} = 9.6 \times 10^2 \times 1.00 \times 1.12 \times 10^{-5} + 7.12 \times 10^3 \times 1.00 \times 0.88 \times 10^{-5}$$

$$A_{570} = 0.073$$

Aynı hesaplar 4.00×10^{-5} , 8.00×10^{-5} , 12.00×10^{-5} , 16.00×10^{-5} M indikatör konsantrasyonları için de yapılır ve A_{430} ve A_{570} absorban değerleri hesaplanır.

M_{HIn}	$[\text{HIn}]$	$[\text{In}^-]$	A_{430}	A_{570}
2.00×10^{-5}	0.88×10^{-5}	1.12×10^{-5}	0.236	0.073
4.00×10^{-5}	2.22×10^{-5}	1.78×10^{-5}	0.381	0.175
8.00×10^{-5}	5.27×10^{-5}	2.73×10^{-5}	0.596	0.401
12.00×10^{-5}	8.52×10^{-5}	3.48×10^{-5}	0.771	0.640
16.00×10^{-5}	11.9×10^{-5}	4.11×10^{-5}	0.922	0.887

İndikatör konsantrasyonları (M) absorban değerlerine (A) karşı grafiğe alındığında 430 ve 570 nm'deki dalga boyları için Şekil-3'deki eğri elde edilir. Eğrilerin görünümü düz bir doğru değildir ve Beer kanunundan sapma vardır. Bu durum disosiyasyon veya asosiyasyona yatkın olan absorpsiyon sistemlerinden beklenen bir sonuçtur.



Kimyasal Sapmalar

$\lambda = 430 \text{ nm}$: pozitif sapma;
İndikatörün iyonize (In) formunu (iyonlaşmış fraksiyonla orantılıdır) tanımlar

$\lambda = 570 \text{ nm}$: negatif sapma;
disosiyasyon olmamış asiti (HIn) tanımlar

http://chem.ncue.edu.tw/liumy/contents/Ch13_2007.ppt

Şekil-3: HIn indikatörünün tamponlanmış çözeltisi için Beer Kanunundan kimyasal sapma

3. Polikromatik (Çok Renkli) Işın ile Enstrumental Sapma

Işının gerçek monokromatik bir ışın olması halinde Beer kanununa sıkı bir bağımlılık görülür ki bu da kanunun sınırlayıcı özelliklerinden biridir. Oysa tek bir dalga boyunu içeren bir ışın nadiren pratik bir anlam taşır; çünkü, sürekli bir kaynaktan çıkan ışıktan istenilen dalga boyundaki ışın dışındakileri ayıran (yok eden) sistemler de, bu dalga boyu etrafında az veya çok simetrik başka bandlar verirler

Polikromatik ışının Beer kanunu üzerindeki etkisini inceleyelim. Sadece iki dalga boyu (λ' ve λ'') içeren bir ışını ele alalım ve bu dalga boylarının her biri için Beer kanunu yazalım.

λ' için,

$$A' = \log \frac{P'_0}{P'} = \epsilon' b c \quad \text{veya,}$$

$$\frac{P'_0}{P'} = 10^{\varepsilon'bc}$$

benzer şekilde, λ'' için de aşağıdaki bağıntı,

$$A'' = \log \frac{P''_0}{P''} = \varepsilon'' b c \quad \text{veya,}$$

$$\frac{P''_0}{P''} = 10^{\varepsilon''bc}$$

Bu karakterdeki ışınla bir absorptans ölçümü yapıldığında, çözülden çıkan ışın demetinin gücü ($P' + P''$) solventten çıkanın ise ($P'_0 + P''_0$) şeklinde gösterilebilir; ölçülen absorptans ise,

$$A_M = \log \frac{P'_0 + P''_0}{P' + P''}$$

denklemleriyle verilir. Denklem değişik şekilde yazılması ve $\varepsilon' = \varepsilon''$ kabul edilmesiyle Beer kanunu elde edilir.

$$A_M = \log \frac{P'_0 + P''_0}{P'_0 10^{-\varepsilon'bc} + P''_0 10^{-\varepsilon''bc}}$$

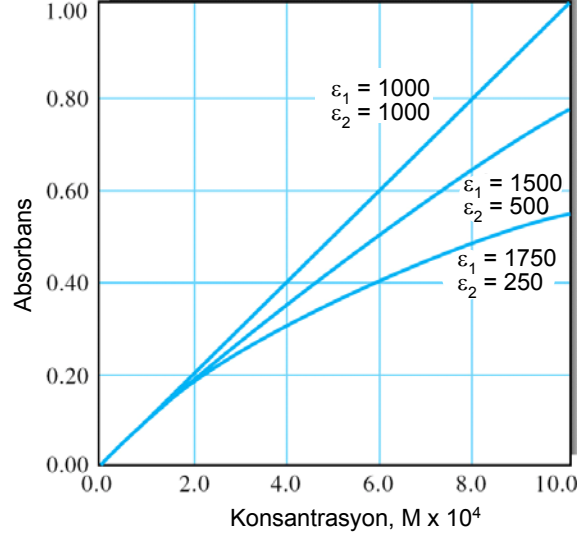
$$A_M = \log (P'_0 + P''_0) - \log (P'_0 10^{-\varepsilon'bc} + P''_0 10^{-\varepsilon''bc})$$

$\varepsilon' = \varepsilon''$ olduğunda,

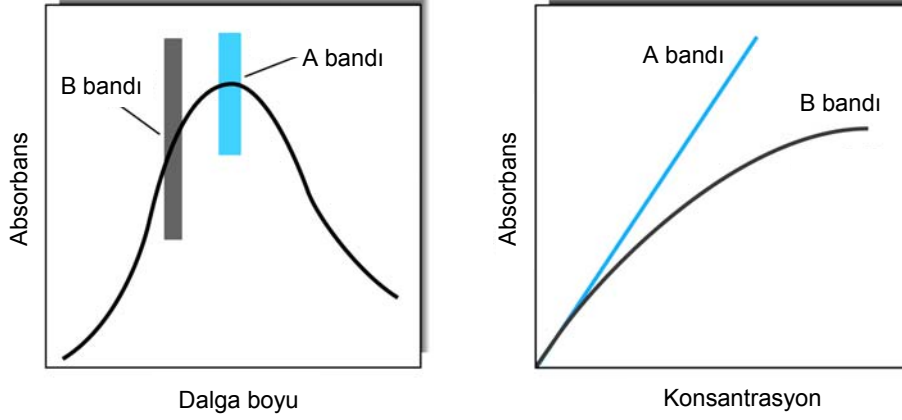
$$A_M = \varepsilon' b c \text{ olur.}$$

Eğer molar absorptiveler birbirine eşit değilse A_M ve konsantrasyon arasındaki ilişki, farkın büyümesiyle doğrusallıktan sapar. Bu ifade, ikiden daha fazla dalga boyu içeren ışınlar için de geçerlidir (Şekil-4a).

Pratik çalışmalar, polikromatik bir ışının, absorptivite maddenin (dalga boyuna bağlı olarak) büyük absorptans değişikliklerine neden olmayacağı bir spektral bölge içermesi halinde, Beer kanunundan önemli sapmalar olmayacağını göstermiştir. Bu gözlemler Şekil-4b'de görülmektedir.



(a) λ_1 ve λ_2 dalga boylarındaki ışınlar için A_M ve konsantrasyon arasındaki ilişkinin doğrusallıktan sapması



(b): A bandı, band boyunca ϵ de fazla değişme olmadığından az bir sapma gösterir, B bandındaki sapma bu bölgede ϵ önemli derecede değişmediğinden büyüktür

Şekil-4: Polikromatik ışının Beer Kanununa etkisi
http://chem.ncue.edu.tw/liumy/contents/Ch13_2007.ppt

4. Başıboş Işının Varlığında Enstrumental Sapmalar

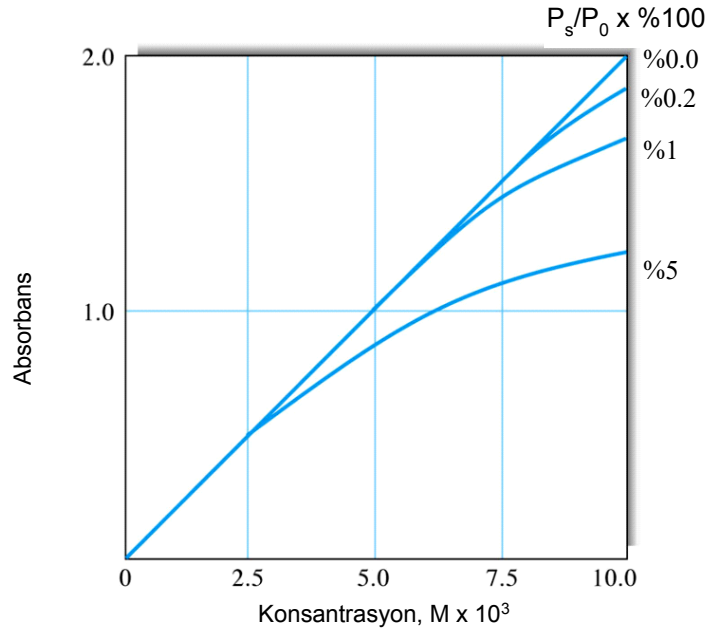
Bir monokromatörden çıkan ışın çeşitli iç yüzeylerden yansiyarak çıkış slitine kadar gelen saçılmış veya başıboş ışınlarla karışarak kirlenir. Başıboş ışının dalga boyu esas ışından çok farklıdır ve ayrıca örnekten geçmeyebilir.

Basıboş ışının bulunduğu halde yapılan ölçmelerde gözlenen absorptans değeri aşağıdaki ifade ile verilir.

$$A' = \log \frac{P_0 + P_s}{P + P_s}$$

P_s , başıboş ışının gücünü gösterir. Şekil-5'de absorptans değerlerinin çeşitli P_s değerlerinde, konsantrasyona göre çizilen grafikleri verilmiştir.

Şekil-4 ve 5'deki eğriler, deneysel enstrumental sapmaların teorik değerlerden daha küçük olduğunu göstermektedir; ayrıca enstrumental sapmaların daima negatif absorptans hataları verdiği de anlaşılmaktadır.



Şekil-5: Çeşitli miktarlarda sapmış ışının neden olduğu Beer Kanunundan sapmalar

Spektrofotometrik Analizlerin Hassasiyetinde Cihaz Gürültüsünün Etkisi

(Bak. Enstrumantal Analizde Gürültü)

Spektrofotometrik analizin doğruluğu ve hassasiyeti, cihazdan gelen kararsızlıklar ve gürültü nedeniyle çoğu zaman sınırlıdır. Cihaz gürültüsünün spektrofotometrik ölçmelerin hassasiyetine etkisini anlayabilmek için, önce bunların öğrenilmesi yararlı olacaktır.

Bir spektrofotometrik ölçme üç aşamada gerçekleştirilir: %0 T ayarı, %100 T ayarı ve örneğin %T değerinin ölçülmesi. Bu aşamaların her birinde oluşabilecek kararsızlıklar birleşerek son okuma %T değerinde değişik okumalara neden olur. Bu farklılık Beer kanunundan çıkarılabilir. Beer kanununu aşağıdaki şekilde yazalım.

$$c = -\frac{1}{\epsilon b} \log T = \frac{-0.434}{\epsilon b} \ln T$$

Bu denklemin b ve c sabit olduğu haldeki kısmi türevi aşağıdaki gibidir.

$$\frac{\partial c}{\partial T} = \frac{-0.434}{\epsilon b T} \partial T$$

Burada ∂c , enstrumanda gürültü veya kararsızlık olması halinde T değerinin ∂T kadar değişmesi durumundaki c konsantrasyonundaki değişikliklerdir. Bu denklemin ilk denklemlerle bölünmesiyle aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$\frac{\partial c}{c} = \frac{0.434}{\log T} \times \frac{\partial T}{T} \quad (12)$$

Üç ölçme kademesinde T'de olabilecek "relatif" kararsızlık (hata) veya gürültü $\partial T/T$ ile, konsantrasyondaki hata ise $\partial c/c$ ile gösterilir. Gürültü ∂T 'nin en iyi ölçümü standart sapma s_T ile saptanır; standart sapma, bir seri ölçme için şu şekilde verilir.

$$s_T = \partial T = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (T_i - T)^2}{N - 1}} \quad (13)$$

Burada T_i , N defa yapılan ölçmelerde T için okunan değerlerin her biri, T ise tüm okumalar için hesaplanan ortalama değerdir. Denklem(12) den relatif standart sapma konsantrasyon cinsinden ifade edilebilir (s_c/c)

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0.434}{\log T} \times \frac{s_T}{T} \quad (14)$$

Deneysel olarak s_T bulunabilir; örneğin T için 20 okuma ($N = 20$) yapılmış olsun, bu değerler s_T için verilen eşitlikte yerine konarak s_T hesaplanır.

Denklem(14)'ün incelenmesinden, fotometrik bir konsantrasyon ölçümündeki konsantrasyonun geçirgenliğin büyüklüğü ile karmaşık bir bağıntıda olduğu görülür. Hatta gerçekteki durum Denklem(14)'dekinden daha da karmaşıktır çünkü s_T 'de, pek çok koşulda T'ye bağımlıdır.

Rothmon, Crough ve İngle detaylı teorik ve deneysel çalışmalarında birkaç enstrumental kararsızlık kaynağını tarif etmişler ve bunların absorbans veya transmittans ölçümlerindeki net etkilerini göstermişlerdir. s_T nin büyüklüğü,

- T ile orantılıdır,
- $(T^2 + T)^{1/2}$ ile orantılıdır,
- T'den bağımsızdır.

Tablo-2'de bu kararsızlık kaynakları özet olarak verilmiştir. Her tip kaynağın konsantrasyon hatasının büyüklüğüne etkisi açıkça görülmektedir.

Bir spektrofotometrik yöntemin hata analizinde ne tip hata kaynaklarının olabileceği iyice bilinmelidir.

1. %0 T Kararsızlığı (Hatası)

Tablo-2'de görüldüğü gibi %0 T hatası transdüserler ve amplifikatörlerle ilgili üç tip hatayı kapsar; adından da anlaşıldığı gibi, bunlar T = %0 ayarının yapılmasıyla ilgilidir. Bu tip hata ışının dedektöre gitmesini engelleyen kapaktan ışın sızması, kapağın hareketiyle oluşan titreşim etkileri, ve transduser ve amplifier sistemlerindeki sıcaklık dalgalanmalarından kaynaklanır. Modern spektrofotometrelerde cihazın uç dalga boylarının dışındaki bölgelerde %0 T gürültüsü çoğu zaman önemli değildir; uç dalga boylarında Denklem(5)'deki K' değeri KP ve KP₀ 'a yaklaşır. %0 T gürültüsü T'nin büyüklüğüne bağlı değildir.

Tablo-2: Spektrofotometrik Ölçmelerde Karşılaşılan Kararsızlık (Hata) Kaynakları

s_T , T 'den bağımsız	$s_T = k' \sqrt{T^2 + T}$	$s_T = k'' T$
%0 T gürültü Ölü akım vurma gürültüsü Ölü akım fazla gürültüsü Amplifikatör fazla gürültüsü Dedektör Johnson gürültüsü (sadece termal dedektörlerde) Sınırlı okuma rezolusyonu Amplifikatör vurma gürültüsü	Dedektör vurma gürültüsü (sadece foton dedektörü)	Kaynak fliker gürültüsü Hücre durumu kararsızlığı

Tablo-3: Çeşitli Düzensizlik Kaynakları İçin Geçirgenlik ve Absorbansın Fonksiyonu Olarak Relatif Konsantrasyon Hataları

Geçirgenlik, T	Absorbans, A	Relatif Hata		
		Ölçmelerde Sınırlar		
		T = % 0 veya Johnson gürültüsü ^(a)	Sinyal vurma gürültüsü ^(b)	Fliker gürültüsü ^(c)
0.95	0.022	± 6.2	± 8.4	± 5.8
0.90	0.046	± 3.2	± 4.1	± 2.8
0.80	0.097	± 1.7	± 2.0	± 1.3
0.60	0.222	± 0.98	± 0.96	± 0.59
0.40	0.398	± 0.82	± 0.61	± 0.33
0.20	0.699	± 0.93	± 0.46	± 1.18
0.10	1.00	± 1.3	± 0.43	± 0.13
0.032	1.50	± 2.7	± 0.50	± 0.09
0.010	2.00	± 6.5	± 0.65	± 0.06
0.0032	2.50	± 16.3	± 0.92	± 0.05
0.0010	3.00	± 43.4	± 1.4	± 0.04

(a) Denklem (14)den $s_T = \pm 0.003$ kullanılarak

(b) Denklem (16)dan $k' = \pm 0.003$ kullanılarak

(c) Denklem (18)den $k'' = \pm 0.003$ kullanılarak

2. Johnson Gürültüsü

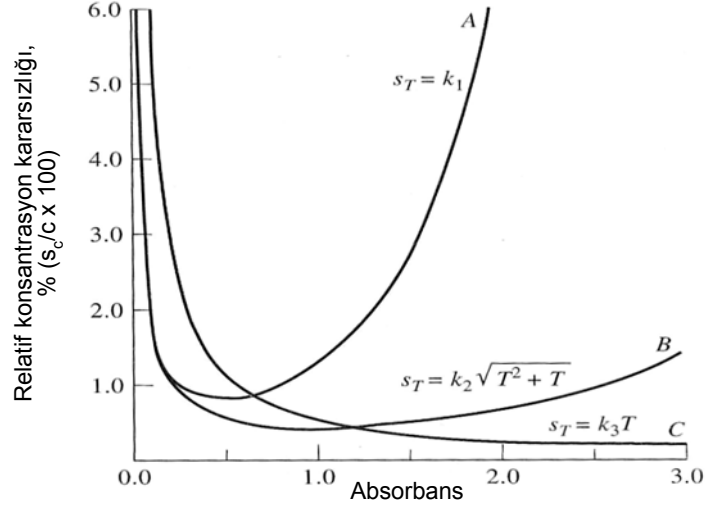
Johnson gürültüsü, dirençli devre elemanlarındaki elektronların ısı tesiriyle hareketlenmelerinden kaynaklanır. Bu hareket, direnç elemanda belirli bir yönde ilerleyen elektronların ortalama sayısını aniden artırır veya azaltır. Johnson gürültüsü akımın büyüklüğüne bağlı değildir; gerçekte, akım olmadığı zaman ortaya çıkar. Johnson gürültüsü, fotometreler ve spektrofotometrelerin tüm dedektör ve elektronik kısımlarında bulunur. Diğer gürültü kaynaklarına kıyasla çok küçüktür ve tüm pratik uygulamalarda ihmal edilebilir; İstisna, IR ışın veren ısı dedektörleridir. Bu dedektörlerle çalışıldığında Johnson gürültüsü spektral ölçmelerin hassasiyetini sınırlayacak kadar etkili olur. Tersine UV ve görünür bölgelerdeki Johnson gürültüsü fototüplerde, fotomultiplier tüplerde, ve amplifikatörlerde olduğundan, ölçmeleri etkilemez.

3. %0 T ve Johnson Gürültüsünün Etkileri

Belirtildiği gibi Johnson gürültüsü ve %0 T gürültüsünün büyüklüğü, transmittansdan bağımsızdır. Yani, Denklem(14) deki s_T , T'den "bağımsız" dır ve s_T nin s_c ye etkisi saptanırken sabit kabul edilebilir. Bir cihazın s_T değeri, bir absorpsiyon çözültüsünün 20-30 bağımsız ölçümleri için standart sapma hesapları yapılarak saptanır.

Tablo-3'deki 3.kolon hassasiyeti Johnson veya %0 T gürültüsü ile sınırlanmış bir spektrofotometrede karşılaşılan konsantrasyondaki relatif hatayı gösterir. Burada, transmittanstaki mutlak kararsızlık $s_T = \pm 0.003$ veya ± 0.3 T'dir. Bu veriler Şekil-6'daki A eğrisini verir, görüldüğü gibi, c'nin relatif standart sapması, absorbans 0.4 dolayında olduğunda bir minimuma ulaşır. (Denklem-14'ün türevi sifıra eşitlenerek, minimumun 0.434 absorbansta veya 0.368 transmittansta gerçekleştiği görülebilir.)

Ticari spektrofotometrelerin çoğunda transmittanstaki standart sapma ± 0.0001 ile ± 0.01 (T = %0.01 ile 1) arasında değişir; düşük değerlere yüksek-kaliteli Ultraviyole görünür ışık cihazlarında rastlanırken fazla pahalı olmayan infrared cihazlarda yüksek değerler gözlenir. Tablo-3'deki ± 0.003 değeri orta kaliteli %0 T veya Johnson gürültüsü olan cihazlar için tipiktir; konsantrasyon hataları 0.15 -1.0 aralığındaki absorpsiyonlarda relatif %1-2 kadardır. Daha kuvvetli absorpsiyon ortamlarında hata da büyük olacağından, ölçme işleminden önce örnek yeteri kadar seyreltilmelidir. Ancak absorbansın 0.1 den daha küçük olması durumunda relatif hatalar %2'nin üstüne çıkar (Şekil-6).



Şekil-6: Çeşitli enstrümental kararsızlıklar için hata eğrileri; A: %0 T, B: sinyal vurma gürültüsü, C: Flicker gürültüsü (Tablo-3'deki verilere göre)

Bu yorumlarda, bir analizdeki sınırlayıcı kararsızlıkların, transmittanstan bağımsız olduğu varsayılmıştır; bu tip kararsızlık, ısı dedektörlü cihazlarda bulunur.

4. Okuma Resolusyonundan (Ayrırma Yeteneğinden) Gelen Sınırlandırma

Bazı Ticari Spektrofotometrelerin hassasiyeti okuma aletlerinin resolusyonu ile sınırlandırılmıştır. Örneğin, toplam skalasının $\pm\% 0.5$ 'i kadar bir hassasiyetle okumaya olanak veren bir cihazın kararsızlığı (s_T) $\pm 0,005 T$ dir. Bu kararsızlık T'ye bağımlı da değildir; Bu nedenle, konsantrasyondaki relatif hataya etkisi %0 T ve Johnson gürültüsünde olduğu gibidir ve Denklem(14) ile tanımlanır. Bu denklemde s_T yerine 0,005 konularak konsantrasyon verileri hesaplanır, %1.5-3 arasındaki kararsızlık relatif geçirgenliği %10-80 aralığında sınırlandırılır.

5. Sinyal Vurma (Titreşim) Gürültüsü

Daha önce de işaret edildiği gibi vurma gürültüsü, bir fotomultiplier tüpün katóduna doğru, veya engelli-tip bir fotoselin bağlantıları boyunca olan

elektronların hareketiyle oluşan elektrik akımında gözlenir. Burada oluşan akım bir seri ayır kuvantize değerlerin sonucudur (bir katottan elektronların emisyonu); birim zamandaki çeşitli kuvantize değerler ortalama bir değer etrafında rasgele dağılmıştır. Akımdaki dalgalanmalarının büyüklüğü akımın kare kökü ile orantılıdır.

Daha önce incelenen gürültü tiplerinin tersine vurma gürültüsü, ölçülen miktarın büyüklüğünün artması ile beraber artar. Sonuç olarak Denklem(4) deki s_T , T'nin fonksiyonudur. Vurma gürültüsünün s_T ve s_c ye etkisi, aşağıdaki örnekte görüldüğü gibi, bulunabilir.

ÖRNEK

s_T ve s_c nin vurma gürültüsü ile ilişkisini gösteren bir bağıntının çıkarılması.

Vurma gürültüsü, geçirgenlik veya absorbans ölçmelerinde yapılan üç işlemde de vardır. %0 T ayarındaki gürültü P ve P_0 ölçümlerindeki gürültülere göre daha küçüktür, çünkü, gürültü artışı sinyalin kare kökü ile orantılıdır. Bu nedenle T'deki kararsızlığı P ve P_0 ölçmelerindeki gürültü belirler. T bu iki değerle çevrildiğinden relatif standart sapması, P ve P_0 'ın relatif standart sapmalarından elde edilebilir. Buna göre,

$$\left(\frac{s_T}{T}\right)^2 = \left(\frac{s_P}{P}\right)^2 + \left(\frac{s_{P_0}}{P_0}\right)^2$$

Vurma gürültüsü ölçülen değer karekökü ile orantılı olduğundan,

$$s_P = k\sqrt{P}$$

$$s_{P_0} = k\sqrt{P_0}$$

yazılabilir, k orantı sabitidir. Bu iki eşitliğin ilk denklemde yerine konulmasıyla s_T denklemi çıkarılır.

$$\left(\frac{s_T}{T}\right)^2 = k^2 \left(\frac{1}{P}\right)\left(\frac{1}{P_0}\right) = \frac{k^2}{P_0} \left(\frac{P_0}{P} + 1\right) \text{ veya,}$$

$$s_T = \frac{T k}{\sqrt{P_0}} \sqrt{\frac{1}{T} + 1}$$

Normal olarak, bir seri T ölçmeleri sırasında P_0 önemli derecede değişmez. Bu durum göz önüne alınarak s_T bağıntısı aşağıdaki şekilde yazılır.

$$s_T = T k' \sqrt{\frac{1}{T} + 1} = k' \sqrt{T + T^2} \quad (15)$$

$$k' = k \sqrt{P_0},$$

Denklem(15), (14)'de yerine konularak Denklem(16) bulunur.

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0.434}{\log T} \times \frac{k' \sqrt{T + T^2}}{T} = \frac{0.434 k'}{\log T} \sqrt{\frac{1}{T} + 1} \quad (16)$$

Tablo-3'de 4.kolondaki veriler Denklem(16) ile hesaplanmıştır. Verilerin grafiği Şekil-6'daki B eğrisi ile gösterilmiştir. Hassasiyeti, Johnson veya %0 T gürültüsünden çok vurma gürültüsünün sınırladığı durumda, çalışılabilen (doğru olarak) absorbands aralığı daha geniştir. Johnson veya %0 T gürültüsünün sınırladığı cihazlarda olduğu gibi, vurma-sınırlı cihazlarda da %95'ten büyük geçirgenliklerde ($A < 0.02$) güvenilir konsantrasyon değerleri alınamaz.

Sinyal vurma gürültüsü, Ultraviyole ve görünür ışık fotometre ve spektrofotometrelerde yapılan transmittans veya absorbands değerlerinin doğruluğunu bazen sınırlarlar. Bu durum infrared cihazlarda önemsiz seviyelerdedir.

6. Flicker Gürültüsü

Fotometreler ve spektrofotometrelerdeki Flicker gürültüsü, büyük ölçüde, ışın kaynağından ileri gelir. Flicker gürültüsünün büyüklüğü teorik olarak bulunamaz. Kaynaktan gelen kararsızlıklar

$$s_T = k'' T \quad \text{eşitliği ile tarif edilir} \quad (17)$$

Denklem(14) bu değerinin yerine konulmasıyla aşağıdaki şekilde yazılır.

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0.434}{\log T} k'' \quad (18)$$

Tablo-3 5.kolonda ve Şekil-6'daki C eğrisinde Flicker gürültüsünden kaynaklanan konsantrasyon hatası, yüksek absorbandslarda hızla düşer ve sıfıra ulaşır.

Düşük absorbansta bir spektrofotometrik ölçmedeki toplam kararsızlık, çoğunlukla, Flicker gürültüsü ile daha önce incelenen gürültülerin toplamından oluşur; diğer üçünün katkısının az olduğu durumlar nadirdir.

7. Hücrenin Durumundan Gelen Kararsızlık

Tüm hücrelerde ufak tefek kusurlar vardır. Bu nedenle, kaynakla hücrenin değişik kısımlarının yüz yüze gelmesiyle farklı yansıma ve saçılma kayıpları olur; ölçülen transmisyonda da bu farka uygun değişikliklerin olması kaçınılmazdır. Yüksek kaliteli hücrelerde bu tip kusurlar en düşük düzeydedir. Hücrelerin çizilmiş ve kirli olması halinde geçirgenliğin hücrenin durumuna olan bağımlılığı önemli derecede artar.

Rothman, Crouch, ve Ingle hücrenin durumundan gelen kararsızlıkların, kaynak Flicker gürültüsüyle aynı davranışta olduğunu göstermişlerdir; yani, s_T , geçirgenlik ile orantılıdır ve konsantrasyon kararsızlığı Denklem(18)'le verilir. Hücrelerin temizlenmesi ve yerleştirilmesinde çok dikkatli davranılması halinde bile hata kaynakları yok edilemez. Spektrofotometrik ölçmelerde doğruluğu etkileyen (sınırlayan) en önemli faktör hücrelerin durumudur. Bu etkiyi azaltacak bir yöntem, kalibrasyon ve analiz süresince hücrelerin yerinden hiç çıkarılmamasıdır; hücrelerin yıkanması, çalkalanması, ve yeni standartlar ve örneklerin konulması, hücreler çıkarılmadan bir şırınga ile yapılır. Bu işlemler sırasında hücrelere dokunmaktan ve sarsmaktan kaçınılmalıdır.

Sonuç olarak, özetlenirse, bir spektrofotometrik analizde karşılaşılan rasgele hatalar çeşitli değişkenlerden kaynaklanır; bunlar, enstrumanın dizaynı, dalga boyu aralığı, kaynağın şiddeti ve kararlılığı, transdüserin hassasiyeti, slit genişlikleri, ve analitin konsantrasyonudur. Kaydedici cihazlarda, spektrum kaydedilirken bu değişkenlerin bazıları değişebileceğinden durum daha da karmaşık bir hal alır.

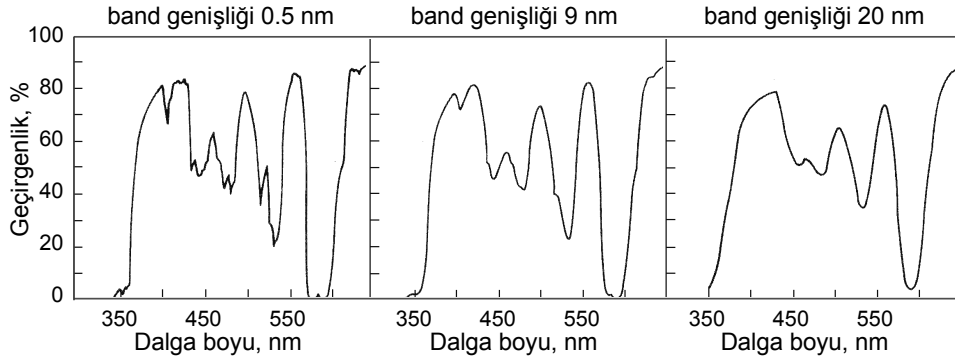
İnfrared cihazlar, en çok Johnson gürültüsüyle (dedektörlerinden dolayı) ve hücre yapısı ile sınırlandırılırlar. IR çalışmalarda, çoğunlukla, ışık yolu çok kısa olan dar hücreler kullanılır. Bu nedenle hücrenin bir kısmındaki örnek kalınlığı, diğer kısımlarındakinden farklı olur. Ayrıca, IR hücreler çok kolay bozulur ve atmosferden etkilenirler; yüzeylerin durumuna göre geçirgenlik farklılıklar gösterir. Kaynak Flicker'i de IR ölçmelerdeki kararsızlığı artırır, fakat Johnson gürültüsü ve hücre kararsızlıklarına göre önemsizdir.

Çeşitli UV ve görünür ışık fotometreler ve spektrofotometreler arasında farklı davranışlar görülür. En iyi kaliteli cihazlardaki sınırlayıcı rasgele hata kaynağı hücre durumundan gelen kararsızlıktır. Bu cihazlarda hücrelerin doldurulup boşaltılma işlemlerinin, hücreyi yerinden çıkarmadan yapılması hatayı azaltan önemli bir önlemdir; yine de, hücre kararsızlığı bu cihazların performansını sınırlar.

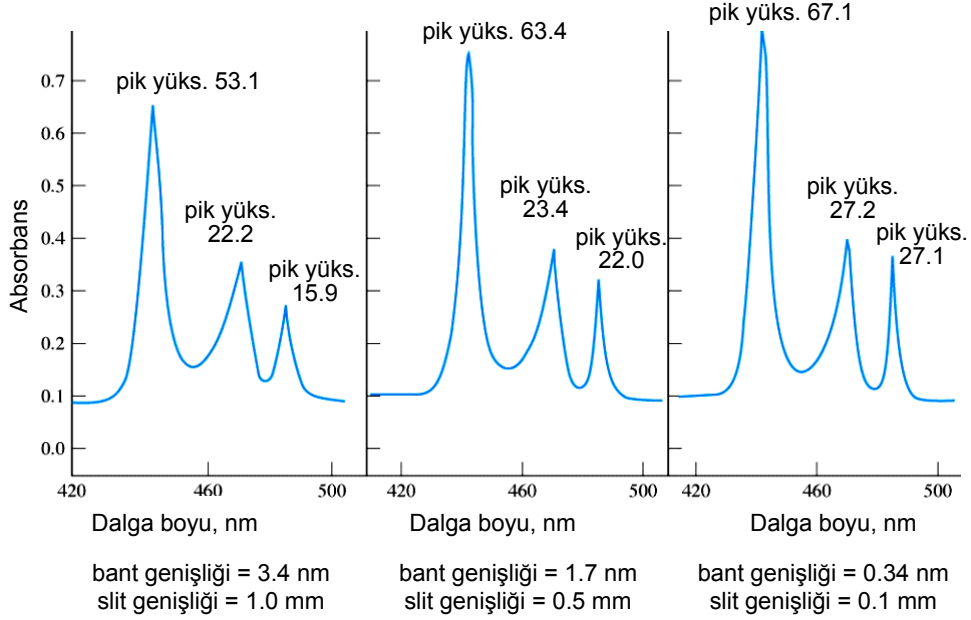
Absorbsiyon Ölçmelerine Slit Genişliğinin Etkisi

Bir spektrofotometrenin birbirini takip eden absorpsiyon bantlarını ayırma yeteneği kullanılan slit genişliğine bağlıdır. Karmaşık bir spektrumda detayları görebilmek için dar slitler gerekir. Şekil-7'de geniş slit kullanılması halinde spektral detayların nasıl kaybolduğu görülmektedir. Bu örnekte didmiyum camının spektrumu incelenmiştir; slit ayarları 0.5, 9 ve 20 nm genişlikte bandlar verecek şekilde değiştirilmiştir.

Paraseodyum klorür çözeltisinin 1.0, 0.5 ve 0.1 mm slit açıklıklarında çizilen spektrumları Şekil-8'da verilmiştir. Burada pik absorbans değerlerinin, slit genişliğinin artmasına paralel olarak yükseldiği görülmektedir. Slit açıklığının 0.14 mm den daha küçük olması hallerinde, absorbansın slit genişliğine bağlı olmadığı da deneylerle saptanmıştır.



Şekil-7: Spektral detaylara band genişliğinin etkisi; örnek didmiyum camıdır



http://chem.ncue.edu.tw/liumy/contents/Ch13_2007.ppt

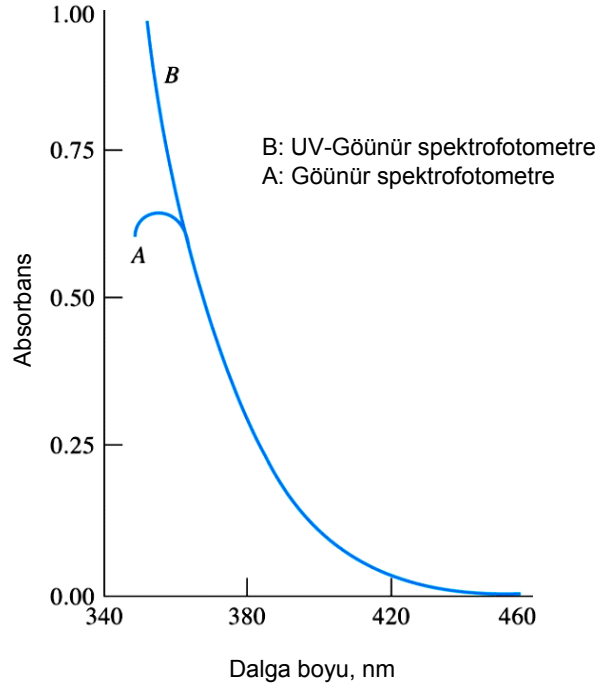
Şekil-8: Slit genişliği ve band genişliğinin pik yüksekliğine etkisi

Şekil-7'nin dikkatle incelenmesi, burada da benzer bir etkinin olduğunu gösterir. Değişik slit genişliklerinde, iki spektrum takımında da (Şekil-7 ve 8) her bir pikin altında kalan alanın aynı olduğu, sadece slit genişliğine göre piklerin yayvan veya dik bir şekilde bulunduğu görülmektedir.

Bu açıklamalara göre, dar absorpsiyon bandlarının gerekli olduğu kantitatif ölçmelerde küçük slit açıklıklarıyla çalışılmalıdır. Slit açıklığı, pik yüksekliği sabit kalıncaya kadar yapılan slit ayarı değişikliği ile saptanır. Slitin gereğinden fazla daraltılması, spektrofotometrenin bandları ayırma gücünü azaltır.

Bir Spektrofotometrenin Uç Dalga Boylarındaki Ölçümlerine Saçılmış Işının Etkisi

Saçılmış ışın da Beer Kanununda enstrumetal sapmaya neden olur. Ölçmelerin, bir cihazın alt ve üst dalga boyu limitlerine yakın dalga boylarında (uç dalga boyları) yapılması halinde, başıboş ışının etkisi daha da önemli bir duruma gelir ve yanlış absorpsiyon pikleri oluşur. Örneğin, cam optikli, tungsten kaynaklı, ve fotosell hücreli görünür ışıkta çalışan bir spektrofotometrede 380 nm'nin altındaki dalga boylarında pencereler, hücreler, ve prizma ışın absorblamaya başlar, böylece transdusere giden ışının enerjisi zayıflar. Kaynak çıkışı düşer ve fotoelektrik sistemin hassasiyeti azalır; 500-650 nm arasındaki bölgede %100 T ayarı için gerekli ışın gücü %1- 2 kadar azalır.



http://chem.ncue.edu.tw/liumy/contents/Ch13_2007.ppt

Şekil-9: Ceryum(4)ün; A cam optikli, b kuvarz optikli spektrofotometreler ile alınmış spektralleri; A'daki hatalı pik uzun dalga boylarındaki başıboş ışının geçmesinden oluşur

Görünür bölgenin uç dalga boylarında elde edilen hatalı piklere bir örnek Şekil-9'da verilmiştir. B eğrisi ceryum(4) çözeltisinin 200-700 nm aralığında hassas bir ultraviyole-görünür spektrofotometrede alınmış spektrumudur. A eğrisi aynı çözeltinin daha basit bir görünür spektrofotometredeki eğrisidir. A eğrisinde görülen pik maksimumu, cihazın 400 nm'den büyük dalga boylarındaki boşluğu algılamamasından oluşmuştur; bunlar seryum(4) iyonları tarafından absorblanmamışlardır.

Aynı etki ultraviyole-görünür ışık spektrofotometrelerde 200 nm'nin altındaki dalga boylarında ölçme yapıldığında görülür.

Yararlanılan Kaynaklar

Principles of Instrumental Analysis, D.A.Skoog, D.M. West, II. Ed. 1981