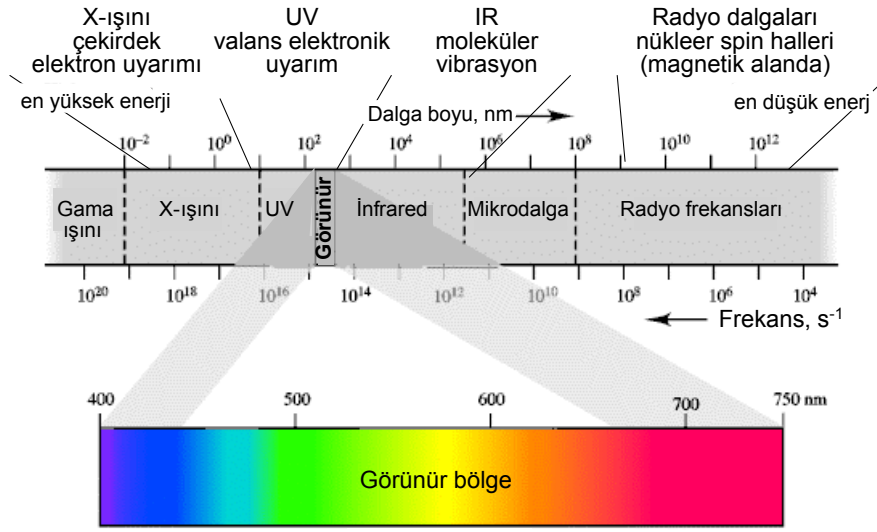


ULTRAVİYOLE VE GÖRÜNÜR (VISIBLE) SPEKTROFOTOMETRE

Ref. e-makaleleri, Enstrümantal Analiz, Absorbsiyon Spektroskopisi



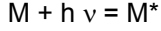
Ultraviyole ve görünür absorpsiyon spektroskopisinde molar absorbtiviter $0-10^5$ aralığında değişir. Herhangi bir pikin ϵ değerinin büyüklüğü, taneciklerin yakalama kesitine ve bir enerji absorpsiyon geçişi olasılığına dayanır. ϵ ve bu parametreler arasındaki bağıntı aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$\epsilon = 8.7 \times 10^{19} \text{ PA}$$

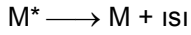
P geçiş olasılığını, A kesit hedef alanını (cm^2 olarak) gösterir. Tipik organik moleküller için alan elektron difraksiyonu ve X-ışını çalışmaları ile yaklaşık olarak bulunabilir; değeri 10^{-15} cm^2 dolayındadır. Geçiş olasılığı değeri ise sıfırdan bire kadar değişir. Kuantum mekaniğinin izin verdiği geçişler için P değeri 0.1-1 arasındadır ve kuvvetli absorpsiyon bandları elde edilir. Molar absorbtiviteri 10^3 'den küçük olan pikler düşük şiddetli pikler olarak sınıflandırılır. Bunlar, oluşum olasılıkları 0.01'den daha küçük olan yasaklanmış geçişlerden meydana gelir.

ABSORBLAYICI MADDELER

Ultraviyole ve görünür ışının atomik veya moleküler tanecikler olan M maddesi tarafından absorblanması iki aşamalı bir işlem olarak düşünülebilir; birinci aşamada M maddesi $h\nu$ enerjisi alarak M^* haline uyarılır.



Uyarılmış halin yaşam süresi çok kısadır (10^{-8} - 10^{-9} saniye) ve herhangi bir geri dönüş olayı (relaksasyon) ile son bulur. Uyarılmış halden geri dönüş, absorpsiyon olayının ikinci aşamasıdır; en çok karşılaşılan türü de uyarılma enerjisinin ısıya dönüşümü şeklinde olanıdır.



Geri dönüş, M^* nin yeni taneciklere parçalanması şeklinde olabilir; bu tür işlemler "fotokimyasal reaksiyonlar" olarak tanımlanır. Veya, geri dönüş, ışının fluoresans veya fosforesans şeklinde tekrar çıkışı şeklinde de oluşabilir. M^* nin yaşam süresinin çok kısa olması, herhangi bir andaki konsantrasyonunun ihmal edilebilir düzeyde olmasına neden olur. Hatta açığa çıkan ısı enerjisini ölçmek bile mümkün olmayabilir. Bu nedenle fotokimyasal parçalanmanın olduğu haller dışında kalan absorpsiyon ölçümlerinde absorblayan sistemde hemen hemen hiç bir bozulma olmaz.

Ultraviyole veya görünür ışının absorpsiyonu, çoğunlukla bağlı elektronların uyarılmasıyla sonuçlanır; bunun sonucu olarak da, test edilen maddede bulunan bağların tipleri ile ilişkili dalga boylarında absorpsiyon pikleri elde edilir. Absorpsiyon spektroskopisi bu nedenle bir moleküldeki fonksiyonel grupların teşhisinde ve ayrıca, tipik absorpsiyon bandları veren bileşiklerin kantitatif analizlerinde de uygulanabilir.

Elektronik geçişleri üç grupta düşünmek ve absorblayıcı maddenin durumunu bu temele göre incelemek uygun olacaktır. Üç elektronik geçiş;

- π , σ , ve n elektronları,
- d ve f elektronları, ve
- yük-transfer elektronları

olarak sınıflandırılabilir.

1. π , σ , ve n Elektronları İçeren Absorblayıcılar

π (pi) elektronlar: Bu elektronlar çift bağlarda veya üçlü bağlarda bulunur; σ (sigma) bağlardan daha zayıftır.

σ (sigma) elektronlar: Sigma elektronlar tek veya σ bağlarda ve çoklu bağlarda (çift veya üçlü bağlar) bulunur; bir çoklu bağın en kuvvetli elemanıdır.

n (non-bonding, bağlanmamış) elektronlar: Bu ip elektronlar bağ oluşturmaya yatkın değildir; bunlara serbest elektronlar denir.

Organik moleküller ve iyonlar ile bazı inorganik anyonlar bu tür absorblayıcılarıdır. Burada organik moleküller ve iyonlar üzerinde durulacak, bazı inorganik sistemlerden de kısaca söz edilecektir.

Daha yüksek enerji seviyesine uyarılabilen valens (değerlik) elektronlar içeren tüm organik bileşikler elektromagnetik ışın absorblarlar. Tek bağ yapan elektronların uyarılma enerjileri oldukça yüksektir; ve elektronların ışını absorblaması, atmosferdeki bileşiklerin de kuvvetli absorbsiyon yaptıkları $\lambda < 185$ nm'nin altındaki vakum ultraviyole bölgede gerçekleşir. Vakum ultraviyole bölgede çalışmalar ise çok zordur; bu nedenle, organik bileşiklerin spektrofotometrik incelemelerinin pek çoğu 185 nm'den yüksek-dalga boylarında yapılır. Yüksek-dalga boylarındaki ultraviyole ve görünür ışınla çalışmalar, "kromoforlar" denilen, ve uyarılma enerjileri oldukça düşük olan fonksiyonel gruplarla sınırlandırılmıştır.

Kromoforların bulunduğu organik moleküllerin elektronik spektrumları çoğunlukla karmaşıktır. Böyle hallerde titreşim geçişleri elektronik geçişlere göre daha basıktır ve bazı bandların üst üste düşmesine neden olurlar; sonuçta, geniş ve sürekli absorbsiyon bandları elde edilir. Spektrumun karmaşık yapısı detaylı veya teorik analizlerin yapılmasını engeller.

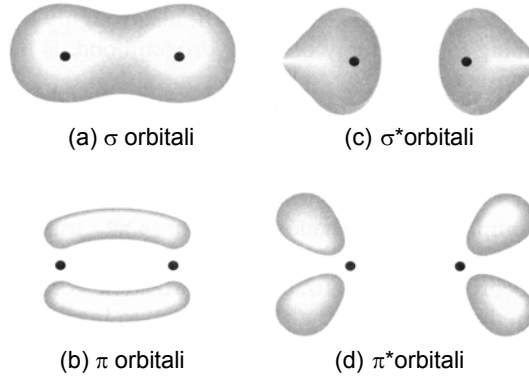
Absorblama Tipleri. Elektronlar

Bir organik molekülün ışın absorblamasını sağlayan elektronlar iki grupta sınıflandırılabilir:

- Atomlar arasında bağ oluşturan ve bu nedenle birden fazla atoma bağlı olan elektronlar.
- Oksijen, halojenler, S ve N gibi atomlar etrafında yerleşmiş (lokalize) ve başka bir atomla paylaşılmamış veya bağ yapmamış olan elektronlar.

Kovalent bağ oluşturan elektronlar, iki atomik merkezin bulunduğu bir alanda hareket ederek bu merkezler arasındaki kulomb itme kuvvetlerini en düşük düzeye indirirler; böylece kovalent bağ oluşur. Bağlı elektronlu, atomların arasındaki mevzilenmemiş (non-lokalize) alana "moleküler orbitaller" denir ve atomik orbitallerin üst üste gelmesiyle oluştuğu kabul edilir. İki atomik orbital birleştiğinde ya düşük-enerjili bir "bağ moleküler orbitali" veya yüksekenerjili bir "anti-bağ moleküler orbitali" meydana gelir. Bir molekülün elektronları, temel halde iken birinci durumdaki yerleşmeyi tercih ederler.

Organik moleküllerde tek bağların olduğu moleküler orbitallere "sigma, σ , orbitalleri", ve bunları oluşturan elektronlara da σ elektronları denir. Şekil-1a'da görüldüğü gibi bir sigma orbitalinin yük yoğunluğunun dağılımı, bağ eksenine etrafında simetrikdir. İki pozitif çekirdek etrafında iki elektronun hareketiyle yaratılan ortalama negatif yük yoğunluğu Şekil-1a'daki gölgeli kısmın büyüklüğüyle belirtilir.



http://chem.ncue.edu.tw/liumy/contents/Ch14_2007.ppt#3

Şekil-1: Sigma ve Pi orbitallerinde elektron dağılımı

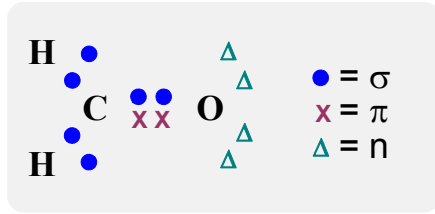
Bir organik moleküldeki çift bağ bölgesi iki tip moleküler orbital içerir: bir çift bağlı elektronu gösteren bir sigma (σ) orbitali, ve diğer bir çifti gösteren bir pi (π) orbitali. Pi orbitaller atomik p orbitallerinin paralel olarak üst üste gelmesiyle oluşurlar. Bunların yük dağılımları, bağın bulunduğu eksenden geçen "hareketsiz düzlem (düşük-yük yoğunluğu bölgesi) ile bu düzlemin üstünde ve altındaki bölgelerdeki maksimum yoğunlukla tanımlanır (Şekil-1b).

Şekil-1c ve 1d anti-bağ sigma ve pi orbitallerinin yük-yoğunluğu dağılımını göstermektedir; bu orbitaller σ^* ve π^* şeklinde gösterilir.

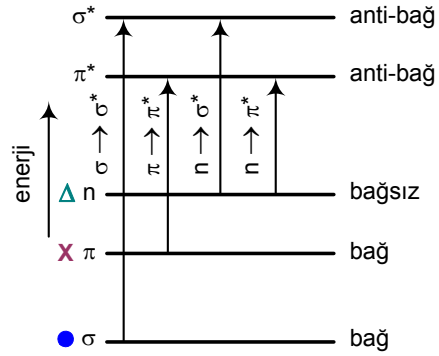
σ ve π elektronlarından başka, pek çok organik bileşik bağlı olmayan elektronlar içerirler. Bu paylaşılmamış elektronlar n sembolü ile gösterilir. Basit bir organik moleküldeki üç tip elektron Şekil-2'de görülmektedir.

Çeşitli moleküler orbital tipleri için gerekli enerjiler bir birinden önemli derecede farklıdır. Bağlı olmayan bir elektronun enerji seviyesi, bağ ve anti-bağ π ve σ orbitalleri arasındaki bir yerdedir (Şekil-3).

Bazı enerji seviyeleri arasındaki elektronik geçişler, ışının absorpsiyonu ile olur. Şekil-3'de dört elektronik geçiş görülmektedir; bunlar: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$ dir.



Şekil-2: Formaldehitte moleküler orbital tipleri



Şekil-3: Elektronik moleküle enerji seviyeleri

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ Elektronik Geçişleri

Bir molekülün bağ σ orbitalindeki bir elektron, molekülün ışın absorblamasıyla uyarılarak anti-bağ σ^* orbitaline geçer, yeni durumda molekül σ , σ^* uyarılmış halde bulunur. Gerekli enerji, diğer elektronik geçişlerle kıyaslandığında, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi için en fazladır. Örneğin C – H tek bağları içeren metan molekülü 125 nm'de, sadece $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi ile bir maksimum absorpsiyon verir. Etanın absorpsiyon piki 135 nm'de elde edilir, ve metanda olduğu gibi $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişiyle gerçekleşir. Burada dalga boyunun daha yüksek (135 nm) olması etan molekü-

lünde bulunan C – C bağının özelliğinden ileri gelir; C – C bağının kuvveti, C – H bağına kıyasla daha düşüktür ve uyarılma için daha az enerjiye (daha yüksek dalga boyu) gereksinim vardır.

Ultraviyole bölgede, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi sonunda absorpsiyon bandları elde edilemez; bu nedenle $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçişi üzerinde durulmayacaktır.

$n \rightarrow \sigma^*$ Elektronik Geçişleri

Ortaklaşmamış elektron çiftleri (bağlı olmayan elektronlar) içeren atomlardan oluşan doygun bileşiklerde $n \rightarrow \sigma^*$ elektronik geçiş gözlenebilir. Bu tip geçişte $\sigma \rightarrow \sigma^*$ tipindeki geçişten daha az enerjiye gereksinim vardır; 150-250 nm arasındaki bölgede, yoğunlukla da 200 nm'nin altındaki dalga boylarında gerçekleşir. Tablo-1'de bazı tipik $n \rightarrow \sigma^*$ geçişleri verilmiştir. Böyle bir geçiş için gerekli enerji miktarı, molekülün atomik bağının tipine, kısmen de yapısına bağlıdır. Bu tip absorpsiyonlarda molar absorbtivite (ε) büyüklüğü orta derecededir ve yoğunlukla 100-3000 lt/cm.mol aralığında bulunur.

Su veya etanol gibi polar solventlerin bulunması durumunda, n, σ^* halinin oluşması için gerekli maksimum absorpsiyon daha kısa dalga boylarına kayar. UV bölgede $n \rightarrow \sigma^*$ geçişiyle oluşan pikleri veren organik fonksiyonel grupların sayısı azdır.

Tablo-1: $n \rightarrow \sigma^*$ Geçişle Oluşan Bazı Absorpsiyon Örnekleri^(a)

Bileşik	$\lambda_{\text{maks.}}, \text{nm}$	$\epsilon_{\text{maks.}}$	Bileşik	$\lambda_{\text{maks.}}, \text{nm}$	$\epsilon_{\text{maks.}}$
H ₂ O	167	1480	(CH ₃) ₂ S ^(b)	229	140
CH ₃ OH	184	150	(CH ₃) ₂ O	184	2520
CH ₃ Cl	173	200	CH ₃ NH ₂	215	600
CH ₃ I	258	365	(CH ₃) ₃ N	227	900

(a) Örnekler gaz halindedir

(b) Etanol solventi içinde

$n \rightarrow \pi^*$ ve $\pi \rightarrow \pi^*$ Elektronik Geçişleri

Absorpsiyon spektroskopisinin organik bileşiklere uygulanmasında yararlanılan elektronik geçişlerin hemen hepsi n veya π elektronlarının π^* uyarılmış duruma geçirilmesi temeline dayanır; bu işlemler için gerekli enerjiler absorpsiyon pikleri-

nin uygun spektral bölgede (200-700 nm) bulunmasını sağlarlar. Her iki geçiş için de π orbitalinin bulunabilmesi için doymamış molekülde doymamış fonksiyonel gruplara (kromofor) gereksinim vardır.

n, π^* durumuna uyarılmayla oluşan pikler için molar absorbtivite değerleri düşüktür ve 10-100 L/cm.mol aralığındadır; oysa $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişindeki değerler, normal olarak 1000-10000 aralığına girer. İki absorpsiyon tipi arasındaki diğer tipik bir fark da piklerin oluştuğu dalga boyuna solventin etkisidir. Solventin polaritesi arttıkça $n \rightarrow \pi^*$ geçişiyle gerçekleşen pikler çoğunlukla daha kısa dalga boylarına doğru kayar; buna "hiposkromik" veya "mavi kayma" denir. $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişinde ise daima değil, fakat çoğunlukla tersi bir durumla karşılaşılır; bu da "bathokromik" veya "kırmızı kayma" olarak adlandırılır. Mavi kayma bağlı olmayan elektron çiftinin solventle sarılmasıyla artar, bu durumda n orbitalinin enerjisi azalır. Bunun en belirgin örneği 30 nm ve daha fazla kaymanın gözlemlendiği su veya alkol gibi solventlerin bulunduğu ortamlardır; bu gibi hallerde bağlı olmayan elektron çifti ile solventin protonu arasında bir hidrojen-bağı oluşur. Burada n orbitalinin enerjisi hidrojen bağının enerjisi kadar azalır. $n \rightarrow \pi^*$ geçişi olduğu zaman kalan tek n elektronu hidrojen bağının varlığını sürdürmez; böylece n, π^* uyarılmış hal enerjisi solventin etkisinden kurtulur. Sonuçta, hidrojen bağının enerjisine eşit (kaba-ca) enerjide bir mavi kayma gözlenir.

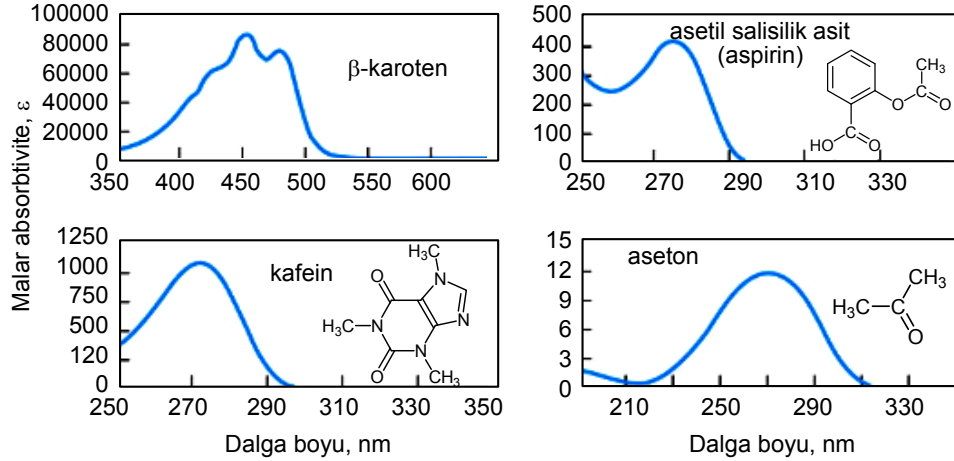
İkinci bir solvent etkisi, hem $\pi \rightarrow \pi^*$ ve hem de $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerini etkiler; artan solvent polaritesi ile kırmızı kayma oluşur. Bu etki 5 nm gibi küçük değerlerdedir ve $n \rightarrow \pi^*$ geçişlerinde gözlenen mavi kaymanın sonucunda gözlenir. Burada, absorber ve solvent arasındaki çekici polarizasyon güçleri hem uyarılmamış hem de uyarılmış durumların enerji seviyelerini düşürür. Enerji seviyesi düşüşü uyarılmış durumda daha fazladır. Bu nedenle solventin polaritesi arttıkça iki durum arasındaki enerji farkı da azalır ve sonuçta küçük kırmızı kaymalar oluşur.

Organik Kromoforlar

Organik kromoforlardan bazılarının adları ve maksimum absorpsiyonun elde edildiği dalga boyları Tablo-2'de verilmiştir. Tablodaki değerler, fonksiyonel grupların teşhisi için belirlenen kaba değerlerdir; bunlar solvent ve molekül yapısına göre kısmen değişik olabilir. Bazı piklerin titreşim etkileri nedeniyle geniş olması maksimum noktanın yerini belirlemede zorluk yaratır.

Tablo-2: Bazı Tipik Kromoforların Absorbsiyon Özellikleri

Kromofor	Örnek	Solvent	λ_{maks} , nm	ϵ_{maks}	Geçiş
Alken	<chem>C6H13C=CH2</chem>	n-Heptan	177	13000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alkin	<chem>C5H11C#CH</chem>	n-Heptan	178 196 225	10000 2000 160	$\pi \rightarrow \pi^*$ - -
Karbonil	<chem>CC(=O)C</chem>	n-Heksan	186 280	1000 16	$n \rightarrow \sigma^*$ $n \rightarrow \pi^*$
	<chem>CC=O</chem>	n-Heksan	180 293	büyük 12	$n \rightarrow \sigma^*$ $n \rightarrow \pi^*$
Karboksil	<chem>CC(=O)O</chem>	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	<chem>CC(=O)N</chem>	Su	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	<chem>CC(=N)N</chem>	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	<chem>CC(=O)[N+](=O)[O-]</chem>	İzooktan	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrozo	<chem>CC(=O)N=O</chem>	Etil eter	300 665	100 20	- $n \rightarrow \pi^*$
Nitrat	<chem>CC(=O)N([O-])[O+]</chem>	Dioksan	270	12	$n \rightarrow \pi^*$



Kromoforların Konjugasyon Etkisi

Moleküler-orbital oluşumunda, konjugasyon işlemi π elektronlarının yerleşmelerini bozar; bu durumda orbitaller dört (veya daha fazla) atomik merkeze göre oluşur. Yerleşmenin bozulmasıyla π^* orbitalinin enerji seviyesi düşer ve anti-bağ özelliği azalır; absorpsiyon maksimumu böylece daha uzun dalga boylarına kayar.

Tablo-3'deki verilerden görüldüğü gibi tek bir organik molekülde çok sayıda kromofor varsa ve kromoforlar birbirinden iki veya daha fazla tek bağla ayrılmışlarsa bu durumda absorpsiyon şiddeti yaklaşık olarak kromoforların absorpsiyonları toplamı kadardır. Örneğin bir çift bağ içeren 1-penten için $\lambda_{\text{maks}} = 184 \text{ nm}$, $\epsilon_{\text{maks}} \sim 10000$ iken, birbirinden üç tek bağla ayrılan iki çift bağlı 1,5-heksen $\lambda_{\text{maks}} = 184 \text{ nm}$, $\epsilon_{\text{maks}} = 20000$ dir; yani ikinci maddenin (diolefin) absorpsiyon piki aynı dalga boyunda, fakat ilk moleküle (olefin) göre iki kat kuvvetlidir.

Kromoforların konjugasyonu (kromoforlar arasında bir tek bağ bulunması) spektral özelliklerde önemli etkilere neden olur. Örneğin (Tablo-3) konjuge bir dien olan 1,3-bütadiene ait absorpsiyon bandı $\lambda_{\text{maks}} = 217 \text{ nm}$ 'de olduğu halde konjuge olmayan 1,5-Heksenin $\lambda_{\text{maks}} = 185 \text{ nm}$ dedir; burada konjugasyon dalga boyunu 32 nm yükseğe kaldırmıştır.

Üç çift bağın konjuge olması durumunda $\lambda_{\text{maks}} = 250 \text{ nm}$ dir ve aradaki fark 65 nm ye çıkar, yani kırmızı kayma etkisi daha da artar.

Aldehitler, ketonlar ve karboksilik asitlerin çift bağlı oksijenleri ile olefinik bir çift bağın konjugasyonu da benzer bir durum gösterir (Tablo-3). İki karbonil veya karboksilat grubunun konjugasyonu da aynı etkiyi yapar. α -, β -doymamış aldehitler ve ketonlar için $n \rightarrow \pi^*$ geçişi nedeniyle oluşan absorpsiyon piki 40 nm veya daha fazla bir dalga boyuna kayar; ayrıca $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişiyle kuvvetli bir absorpsiyon piki oluşur. Bu son pik, karbonil grubunun konjuge olmaması halinde sadece vakumlu ultraviyole spektrofotometrede gözlenebilir. Konjuge sistemler için absorpsiyon piklerinin dalga boyları, çift bağlı atomlara bağlanan grup tiplerine göre değişir.

Tablo-3: Çok Sayıda Kromoforun Absorbsiyon Etkisi


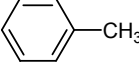
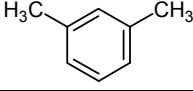
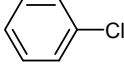
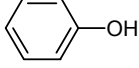
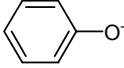
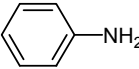
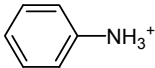
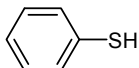
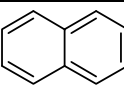
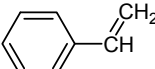
Bileşik	Tipi	λ_{maks} , nm	ϵ_{maks}
	Olefin	184	~10000
	Diolefin (konjuge değil)	185	~20000
	Diolefin (konjuge)	217	21000
	Triolefin (konjuge)	250	-
	Keton	282	27
	Doymamış keton (konjuge değil)	278	30
	Doymamış keton (konjuge)	324 219	24 3600

Aromatik Sistemlerin Absorblaması

Aromatik hidrokarbonların ultraviyole spektralleri, $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişinden kaynaklanan üç band takımı ile tanınır. Örneğin, benzen 184 nm'deki ($\epsilon_{\text{maks.}} = 60000$) kuvvetli, 204 nm'deki ($\epsilon_{\text{maks.}} = 7900$) zayıf (bu banda E_2 bandı denir), ve 256 nm'deki ($\epsilon_{\text{maks.}} = 200$) daha zayıf (bu banda da B bandı denir) üç band ile tanınır. Benzenin ve diğer pek çok aromatik maddenin uzun-dalga boylu bandı bir seri keskin pik içerir; bu durum moleküldeki titreşim geçişlerinin temel elektronik geçişlerin üstüne binmesinden olur. Polar solventler aromatik halkada bazı süstitüsyonlar yaparak bu ince yapıyı yok ederler.

Benzenin karakteristik üç bandı da halkada bulunabilecek süstitüentlerden etkilendir; genel amaçlı spektrofotometrelerde, son iki-uzun dalga boylu bandlar bulunduğundan bunlar üzerindeki etki özellikle önemlidir. Tablo-4'de E₂ ve B bandlarına süstitüentlerin etkisi görülmektedir.

Tablo-4: Aromatik Bileşiklerin Absorbsiyon Karakteristikleri

Bileşik		E ₂ Bandı		B Bandı	
		λ_{maks} , nm	ϵ_{maks}	λ_{maks} , nm	ϵ_{maks}
Benzen		204	7900	256	200
Toluen		207	7000	261	300
m-Ksilen		-	-	263	300
Klorobenzen		210	7600	265	240
Fenol		211	6200	270	1450
Fenolat iyonu		235	9400	287	2600
Anilin		230	8600	280	1430
Anilinyum iyonu		203	7500	254	160
Tiyofenol		236	10000	269	700
Naftalin		286	9300	312	289
Stiren		244	12000	282	450

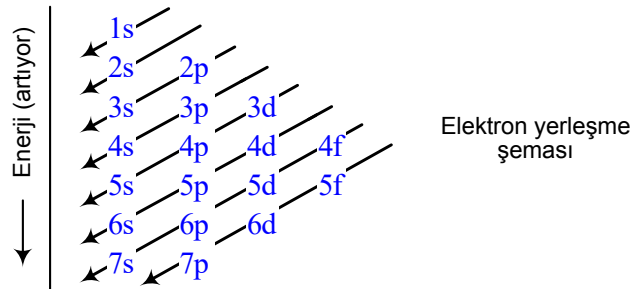
Bazı fonksiyonel gruplar kendileri ultraviyole bölgede absorpsiyon yapmadıkları halde kromofor piklerini daha yüksek dalga boylarına kaydırır ve şiddetini artırır; bunlara "oksokrom" denir. Tablo-4'de, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ gruplarının benzen kromoforunda, özellikle B bandı üzerindeki oksokromik etkisi açıkça görülmektedir. Oksokromik sübstitüentlerde, halkanın elektronları ile etkilenecek en az bir çift n elektronu bulunur. Bu etkileşim π^* halini kararlı duruma getirir, enerji düşer, ve sonuçta kırmızı kayma olur. Oksokromik etki fenolat anyonunda fenole kıyasla daha belirgindir; anyonda fazladan bulunan ortaklaşmamış bir çift elektron etkileşimi artırır. Anilinyum katyonunda ise tersi bir durum vardır; anilindeki bağlı olmayan elektronlar anilinyum katyonunun oluşmasıyla kaybedilir ve oksokromik etki de kalkar.

İnorganik Anyonların Absorblaması

Bazı inorganik anyonlar $n \rightarrow \pi^*$ geçişi nedeniyle ultraviyole absorpsiyon pikleri verirler. Bunlar arasında nitrat (313 nm), karbonat (217 nm), nitrit (360 ve 280 nm), azido (230 nm), ve tritiyokarbonat (500 nm) iyonları sayılabilir.

2. d ve f Elektronları ile İlgili Absorpsiyon

Pek çok geçiş-metal iyonları spektrumun UV veya görünür bölgesinde absorpsiyon yaparlar. Lantanid ve aktinid serisi metaller için işlem, 4f ve 5f elektronlarının elektronik geçişleri ile gerçekleşir; birinci ve ikinci geçiş-metalleri serisi için ise absorpsiyondan 3d ve 4d elektronları sorumludur.



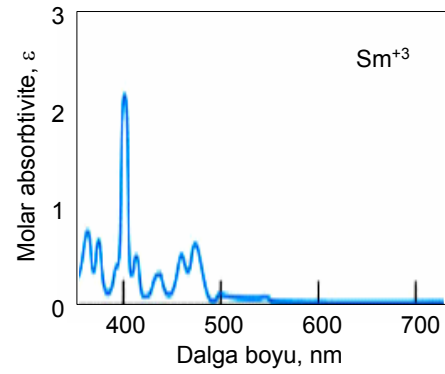
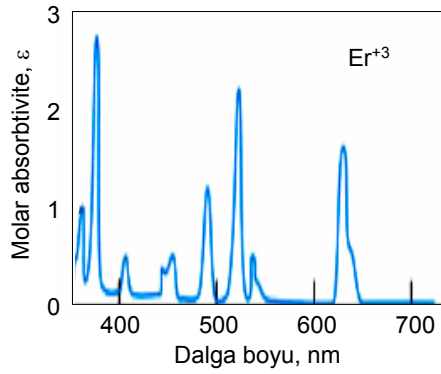
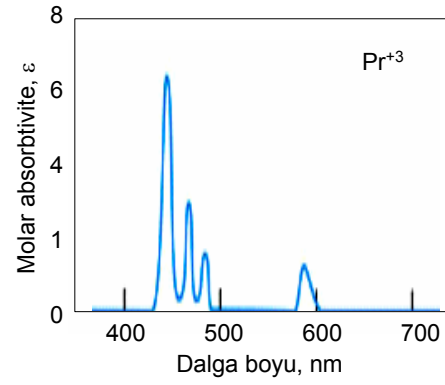
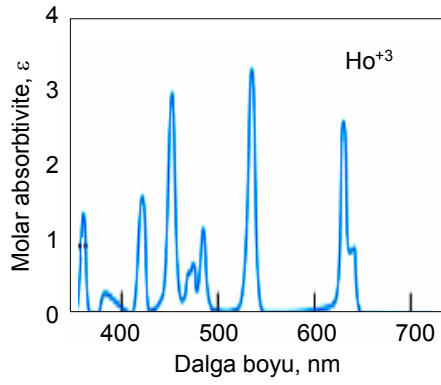
Lantanid ve Aktinid İyonlarının Absorblaması

Lantanidler

La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Aktinidler

Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr
----	----	----	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----



<http://faculty.atu.edu/abhuiyan/Course/Chem%204414/Chapter%2014.ppt>

Şekil-4: Holmiyum, praseodmiyum, erbiyum ve samaryum iyonlarının spektrumları

Lantanid ve aktinid iyonlarının çoğu ultraviyole ve görünür bölgede absorpsiyon yaparlar. Pek çok organik ve inorganik absorblayıcının davranışlarının aksine bu iyonların spektraları dar, iyi-tanımlanmış ve karakteristik absorpsiyon pikleri içerirler; bunlar metal iyonundaki ligand tiplerinden çok az etkilenirler. Tipik bazı spektrumlar Şekil-4'de görülmektedir.

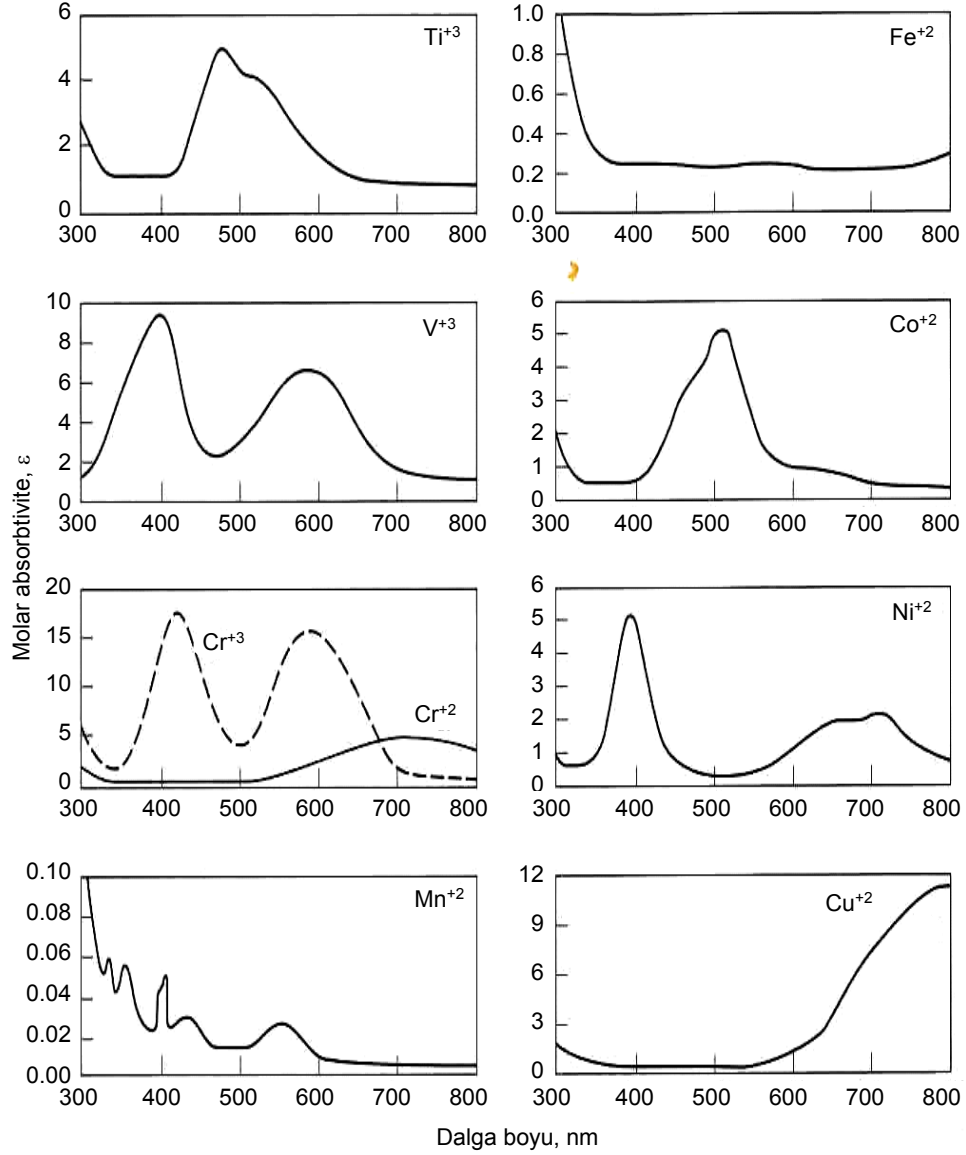
Lantanid serisi elementler çeşitli enerji seviyelerindeki 4f elektronlarının, aktinid serisi elementler ise 5f elektronlarının geçişleri sonunda ışın absorblarlar. Yüksek enerjili orbitallerde bulunan elektronlar 4f ve 5f elektronlarının bulunduğu iç orbitalleri dıştan gelecek etkilere karşı korurlar; bu nedenle oluşan bandlar düz-ğün ve dardır, solventten veya dış elektronlarla bağlanan gruplardan etkilenmezler.

Birinci ve İkinci Geçiş Metalleri Serisi Elementlerin Absorblaması

Geçiş Metalleri

Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn
Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd
	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg
	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Uun	Uuu	Uub

İlk iki geçiş metalleri serisinde bulunan 18 elementin iyonları ve kompleksleri, oksidasyon durumunda değillerse, görünür bölgede absorpsiyon yapma eğilimindedirler. Lantanid ve aktinid elementlerinin tersine, absorpsiyon bandları geniştir (Şekil-5) ve kimyasal çevre faktörlerinden kuvvetle etkilenirler. Çevresel etkilere örnek olarak sulu bakır(2) iyonlarının açık mavi, bakırın amonyaklı kompleksinin çok koyu mavi renk vermesi gösterilebilir.



http://www2.fu.edu/~cai/index_files/Chapter%2013%20&%2014%20Molecular%20Spectrometry.ppt#34

Şekil-5: Bazı geçiş metal iyonlarının absorpsiyon spektrumları

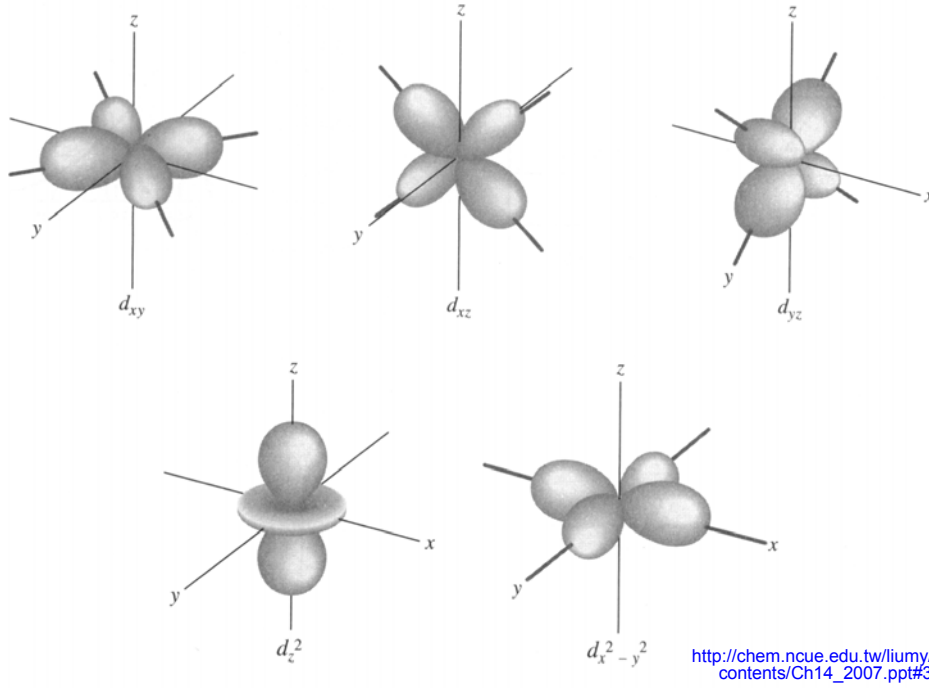
Geçiş serisi metallerin kısmen işgal edilmiş beş orbitalleri vardır (birinci seride 3d ve ikincide 4d), bunların her birinde bir çift elektron bulunur. Bu orbitallerdeki elektronlar bağ yapmaya yardımcı olmazlar; geçiş metallerinin spektral özellikleri bu d orbitallerinin çeşitli enerji seviyeleri arasındaki elektronik geçişlerle ilgilidir. Geçiş metalleri iyonlarının renkleri ve bu renkler üzerindeki kimyasal çevrenin etkilerini açıklamak için iki teori geliştirilmiştir. Bunlardan biri "kristal alan" teorisidir ve diğerine göre daha basittir, konuyu kalitatif olarak inceler. Diğer molekül-orbital yöntemidir ve daha kompleksdir, ancak daha kantitatif bir açıklama getirir.

Her iki teori de çözültideki geçiş-metalleri iyonlarının d orbitalleri enerjilerinin birbirinin aynı olmadığı ve adsorbsiyonun, elektronların düşük enerjili bir d orbitalinden yüksek enerjili orbitallerden birine geçişiyle gerçekleştiği varsayımına dayanır. Dış elektrik ve magnetik alanların bulunmaması durumunda (seyreltik gaz hali gibi) beş d orbitalinin enerjileri birbirine eşittir, ve bir elektronu bir orbitalden başka bir orbitale hareket ettirmek için ışın absorpsiyonuna gereksinim olmaz. Diğer taraftan, çözültide metal iyonu ile su ve diğer başka ligandlar arasında kompleks oluşur. Merkez metal iyonunun çeşitli d orbitallerindeki elektronlar ve vericinin (donor) elektron çifti arasındaki elektrostatik itme kuvvetleri farkı nedeniyle d orbital enerjileri bölünür (ayrılır). Bu etkiyi anlamak için çeşitli d orbitallerindeki elektronların mekanda dağılmış olduklarını düşünelim.

Ortamda çekirdek etrafındaki beş d orbitalinin elektron-yoğunluğu dağılımı Şekil-6'da görülmektedir. Orbitallerden üçü d_{xy} , d_{xz} ve d_{yz} olarak tanımlanmıştır ve mekandaki yerleşimleri dışında birbiriyle aynı görünümde dirler. Bu orbitaller mekanda üç eksen arasındaki bir sahada bulunurlar; bu nedenle elektron yoğunlukları eksenler boyunca en düşük, eksenler arasındaki diagonaller (köşegen) üzerindeyse en yüksek seviyededir. Tersine olarak, $d_{x^2-y^2}$ ve d_{z^2} orbitallerinin elektron yoğunlukları eksenler boyunca en yüksek düzeydedirler.

Altı molekül su (veya başka bir ligand) ile koordinasyon yapan bir geçişmetali iyonu düşünelim. Bu ligand moleküllerin (veya iyonların), merkezi atomun çevresinde simetrik olarak dağıldığı varsayılabilir; Şekil-6'da görülen üç eksenin herbirinin ucuna bir ligand yerleşebilir. Sonuçta geçiş metali komplekslerinin çok bilinen oktahedral yapısı oluşur. Su dipollerinin negatif uçları metal iyonuna doğru döner ve bu dipollerin yarattığı elektrik alanları, tüm d orbitalleri üzerinde bir itme etkisi oluşturur; böylece orbitallerin "enerjilerini artırır". Bu durumdaki orbitaller "kararsız" dir. d_{z^2} nin en yüksek yük yoğunluğu bağ yapma eksenini üzerindedir. Bu nedenle bağlanan bir ligandın negatif alanının d_{z^2} orbitali üzerindeki etkisi d_{xy} , d_{xz}

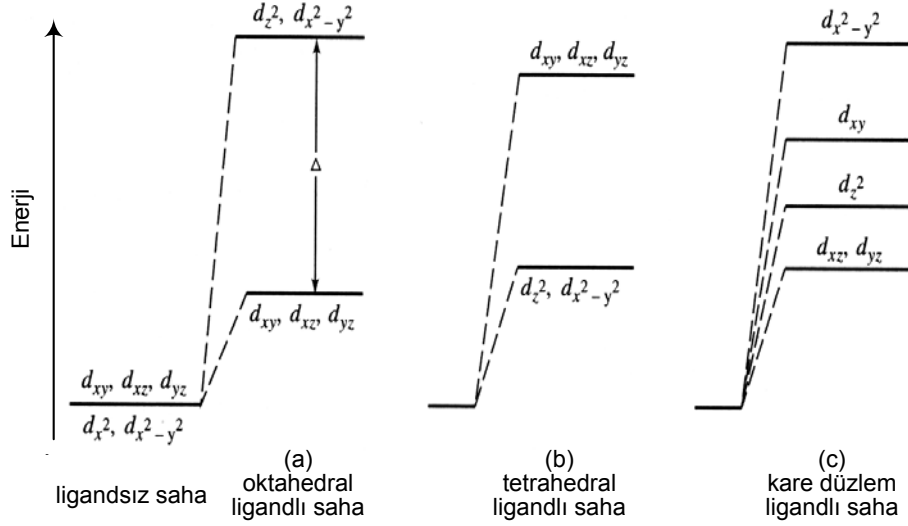
ve d_{yz} orbitallerine olduğundan daha fazladır; çünkü d_{xy} , d_{xz} ve d_{yz} orbitallerinin yük yoğunlukları bağ eksenleri üzerinde değildir. d_{xy} , d_{xz} ve d_{yz} orbitallerinde oluşan kararsızlık, bu orbitallerin mekandaki yerleşimleri dışında birbirinin benzeri olması nedeniyle aynı derecede olur.



Şekil-6: Çeşitli d-orbitallerindeki elektron yoğunluğu dağılımı

Elektrik alanının $d_{x^2-y^2}$ orbitali üzerindeki etkisi ise pek iyi bilinmemektedir. Kuantum hesaplamaları ile bu orbitalde oluşan kararsızlığın d_{z^2} orbitali ile aynı seviyelerde bulunduğu saptanmıştır.

Şekil-7'de (1.diagram) oktahedral yapıya ait bir enerji-seviyesi diagramı verilmiştir; bir ligand alanı bulunması halinde tüm d orbitallerinin enerjilerinin yükseldiği ve orbitallerin bir Δ enerji farkı ile iki gruba bölüldüğü görülür. Şekilde ayrıca koordinasyon sayısı dört olan komplekslerin enerji diagramları da çizilmiştir.



Şekil-7: Ligand alanının d-orbital enerjilerine etkisi

Bu tip komplekslerde iki konfigürasyonla (değişik biçimde düzenlenme) karşılaşılr:

- Terahedral düzen; bu yerleşim şeklinde dört ligand, metal iyonu etrafında simetrik olarak dağılır.
- Kare düzlem düzen; bu yerleşimde ise dört ligand ve metal iyonu tek bir düzlem üzerinde bulunur.

Her bir konfigürasyon farklı bir d-orbitali bölünme şekli gösterir (Şekil-7'deki 2. ve 3. diagramlar).

Δ 'nın büyüklüğü (Şekil-7) bir çok etkene bağlıdır; metal iyonunun değerliliği ve metalin periyodik tablodaki yeri bu etkenlerden ikisidir. En önemli etken ise ligandın oluşturduğu alanın kuvvetidir. Ligand alan kuvveti ne kadar büyük ise Δ da o kadar büyük olur.

Çok bilinen bazı ligandlar ligand alan kuvvetine göre sıralandığında: $I^- < Br^- < Cl^- < F^- < OH^- < C_2O_4^{2-} \sim H_2O < SCN^- < NH_3 < \text{etilendiamin} < \text{o-fenantrolin} < NO_2^- < CN^-$ sırasını izler. Bu sıralama tüm geçiş-metal iyonları (çok az istisna ile) için geçerlidir. Herhangi bir geçiş-metalinin bu ligandlarla yaptığı çeşitli komplekslerin

elde edilecek absorpsiyon piklerinin dalga boyları hakkında, (birbirine göre) kalitatif bir yorum yapılabilir. Alan kuvveti arttıkça Δ değeri de artacağından maksimum absorpsiyonun elde edildiği dalga boyu düşer (Tablo-5).

**Tablo-5: Ligandların d → d Geçişinde
Absorpsiyon Maksimumuna Etkisi**

Ligandı λ_{maks} (nm) değeri					
Merkez iyon	Artan ligand alan kuvveti				
	6 Cl ⁻	6 H ₂ O	6 NH ₃	3 en ^(a)	6 CN ⁻
Cr (3)	736	573	462	456	380
Co (3)	-	538	435	428	294
Co (2)	-	1345	980	909	-
Ni (2)	1370	1279	925	863	-
Cu (2)	-	794	663	610	-

^(a)etilendiamin (bitendant ligand)

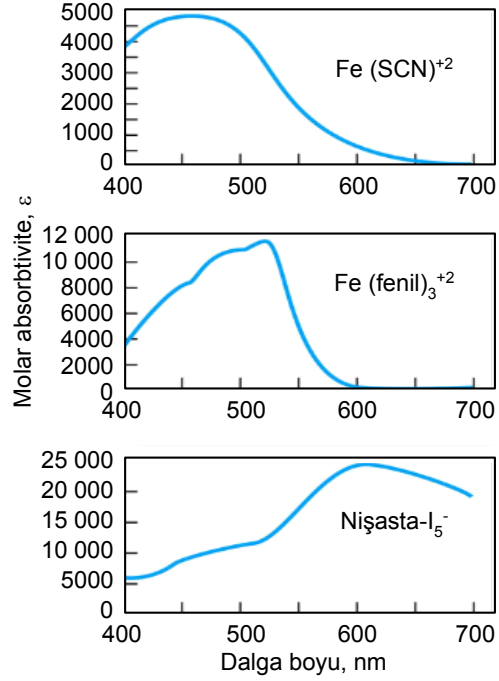
3. Yük - Transferi Absorpsiyonu

"Yük-transferi absorpsiyonu" yapabilen maddeler molar absorbtiviteyi çok yüksek olduğundan ($\epsilon_{maks.} > 10000$) analitik amaçlar için oldukça önemlidir. Molar absorbtivitenin yüksek oluşu absorblayıcı maddenin tanımını ve tayinini çok kolaylaştırır. Pek çok inorganik kompleks yük-transferi absorpsiyonu özelliği gösterir; bunlara "yük-transfer kompleksleri" denir. Bu tip komplekslere örnek olarak demir(3)'ün fenolik ve tiyosiyanat kompleksleri, demir(2)'nin o-fenantrolin kompleksi, moleküler iyodun iyodür kompleksi, ve prussiyen mavisinin oluşumunda bulunan ferroferriyanür kompleksi verilebilir.

Bir kompleksin yük-transferi spektrumu verebilmesi için kompleksi oluşturan maddelerden birinin elektron-verici, diğerinin de elektron-alıcı özellikte olması gerekir. Işının absorpsiyonu sonucu elektron alıcıya daha çok ait olan orbitale vericiden bir elektron geçer (elektron transferi). Bu iç yükseltgenme-indirgenme reaksiyonu sonunda uyarılmış hal ortaya çıkar. Buradaki olay organik bir kromoforun olayından farklıdır; organik kromofor durumunda uyarılmış haldeki elektron, iki veya

daha fazla atomun oluşturduğu moleküler orbitalde bulunur. Burada ise elektron, elektron alıcıya ait olan orbitaldedir.

Demir(3)/tiyosiyanat sisteminde gözlenen yük-transferi absorpsiyonu tipik bir örnektir. Bir foton (ışın) absorpsiyonu ile tiyosiyanat iyonundan bir elektron ayrılarak demir(3) iyonuna ait bir orbitale geçer. Böylece çoğunluğu demir(2) ile nötral tiyosiyanat radikallerinden oluşan uyarılmış hal oluşur. Başka tip elektronik uyarılarda olduğu gibi elektron kısa bir süre sonunda önceki orijinal konumuna döner. Ayrıca, uyarılmış kompleks fotokimyasal yükseltgenme-indirgenme ürünleri vererek disosiyasyon olabilir.



<http://faculty.atu.edu/abhuiyan/Course/Chem%204414/Chapter%2014.ppt>

Elektron-transferi eğilimi arttıkça yük-transferi işleminde daha az enerjiye gereksinim olur ve oluşan kompleks daha büyük dalga boylarında absorpsiyon yapar. Örneğin, tiyosiyanat iyonu klorür iyonundan daha iyi bir elektron vericidir (indirgeyici); bu nedenle demir(3)/tiyosiyanat kompleksinin adsorpsiyonu görünür bölgede, sarı demir(3)/klorür kompleksinin adsorpsiyonu ise ultraviyole bölgede bulunur. Demir(3)ün iyodür kompleksinin adsorpsiyonu tahmin edileceği gibi daha da yüksek bir dalga boyunda olmalıdır. Ancak demir(2) ve iyodür veren elektron-transfer reaksiyonu %100 tamamlanan bir reaksiyon olduğundan böyle bir absorpsiyon piki elde edilememiştir. Çünkü yük-transferi absorpsiyonu oluşması için transfer olan elektronun kısa bir süre sonra eski konumuna dönmesi gerekir.

Metal iyonunun bulunduğu yük-transfer komplekslerinin çoğunda metal elektron alıcı olarak işlev yapar. Demir(2) veya bakır (1)'in o-fenantrolin kompleksinde durum farklıdır, burada ligand alıcı, metal iyonu vericidir. Bu gibi başka örnekler de vardır.

Organik bileşiklerden çok ilginç yük-transfer kompleksleri elde edilir. Örneğin kinhidron (kinon ve hidrokinonun 1/1 kompleksi) görünür bölgede kuvvetli absorpsiyon gösterir. Başka örnekler olarak iyodun aminler, aromatikler ve sülfürlerle verdiği kompleksler sayılabilir.

BAZI TİPİK CİHAZLAR

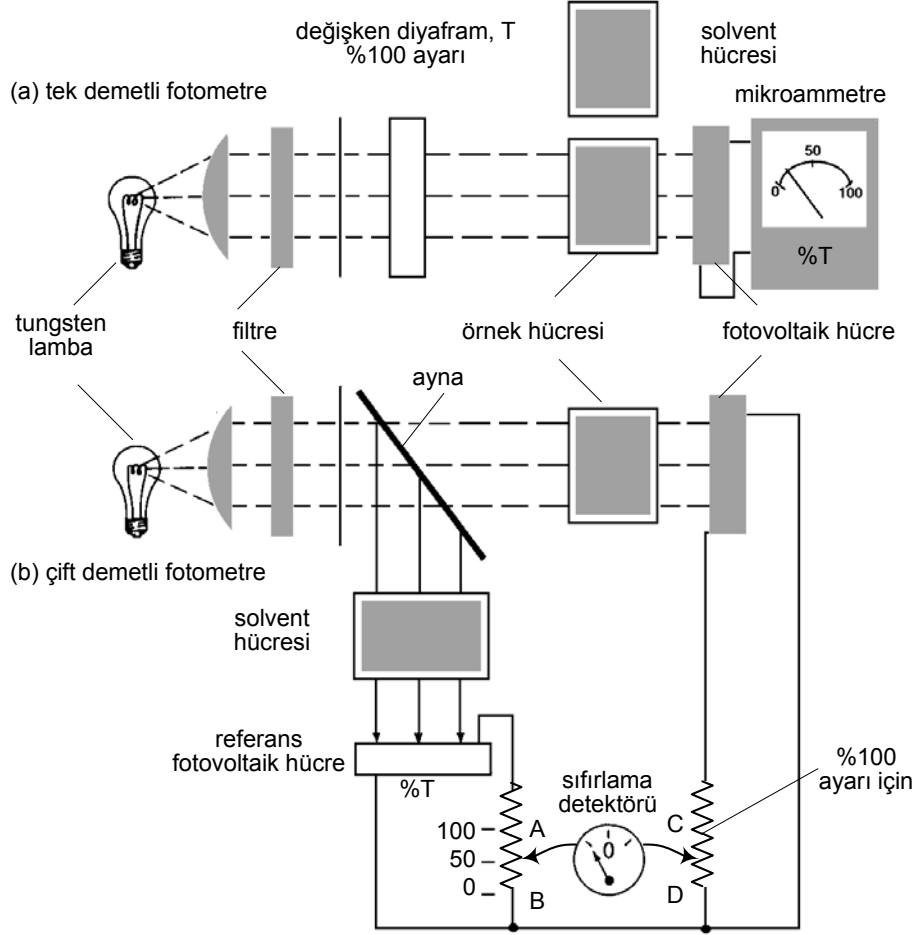
UV ve görünür bölgede çalışan pek çok ticari cihaz bulunur. Bunların en basiti kolorimetrelerdir; kıyaslama gözle yapılır. En karmaşık olanları ise çift-ışın yollu kaydedicili cihazlardır; bunlar 185-3000 nm aralığına kadar geniş bir spektral bölgeyi tarayabilirler. Bu bölümde bir kaç tipik cihaz görülecektir.

1. Fotometreler

Fotometreler absorpsiyon analizlerinin yapıldığı basit ve fazla pahalı olmayan aletlerdir. Bir filtreli fotometrenin kullanım rahatlığı, bakım kolaylığı, ve sağlamlığı çok gelişmiş spektrofotometrelerde yoktur. Fotometrelerde, çok yüksek spektral saflığın gerekmediğinde, kompleks bir cihazda olduğu kadar doğru sonuçlar elde edilebilir.

Görünür (Visible) Fotometreler

Şekil-8'de iki fotometrenin şematik diagramı görülmektedir. Birincisi tek-ışın yollu, doğrudan-okumalı bir cihazdır; bir tungsten-filamen lamba, paralel ışın demeti veren bir mercek, bir filtre, ve bir fotovoltik hücre bulunur. Oluşan akım, ön yüzünde 0-100 arasında skala bulunan bir mikroampermetrede gösterilir. Işık yolu üzerindeki örneğin yaptığı absorpsiyonun tamamını skalaya alabilmek için, bazı cihazlarda lambaya verilen voltajı değiştirecek sistemler takılmıştır, bazılarında ise bu ayarlama ışık yolu üzerine konulan bir diyaframın açıklığı değiştirilerek yapılır. Fotovoltik hücreden çıkan sinyaller aldığı ışın ile orantılı olduğundan ışın yolu üzerinde bir örnek bulunduğu skalada gözlenen değer tüm skalaya göre % geçirgenlik değeri olur. Tabii örneğin doğrudan adsorpsiyonunun ölçülmesi için logaritmik bir skala da bulunabilir.



Şekil- 8: Tek ve çift-demetli fotometrelerin şematik görünüşleri

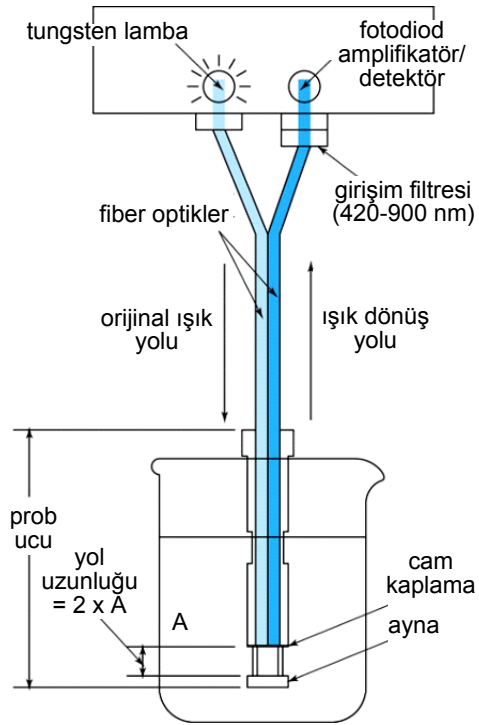
İkinci tip fotometreler çift demetli, sıfır-ayarlıdır (Şekil-8). Bunlarda kaynaktan gelen ışın bir ayna ile ikiye bölünür, bir kısmı örnekten geçerek fotovoltaik hücreye giderken diğer kısmı solventten geçer ve başka bir fotovoltaik hücreye gider. İki fotovoltaik hücreden çıkan akımlar değişken dirençlerden geçerler. Bu dirençlerden biri 0-100 arasında geçirgenliğe göre kalibre edilmiştir. İki direnç arasında null-metre (sıfır ayarlayıcı) olarak çalışan hassas bir galvanometre bulunur, AB

arasındaki potansiyel düşmesi CD arasındakine eşit olduğunda galvanometreden elektrik geçmez; diğer tüm koşullarda ise bir akım oluşur. Başlangıçta her iki hücreye de solvent konur ve A bağlantısı 100'e getirilir, C bağlantısı ise galvanometrede hiç akım görülmeyecek şekilde ayarlanır. Örnek hücreesine ait ışın yolu üzerindeki solvent hücresi çıkarılıp örnek konulur. Işının bir kısmı örnek tarafından absorblanacağından çıkan ışının gücü azalır ve bu değişiklik fotovoltaiik hücreye yansır ve CD'deki potansiyel düşer; AB ile CD arasında başlangıçta ayarlanan denge bozulur. Bu durumda A daha düşük değerlere kayarak dengeyi yeniden kurar. Denge, örneğin 50'de oluşmuşsa skaladan doğrudan % geçirgenlik (%50) değeri okunur. Çift-demetli fotometrelerde, voltaj değişiklikleri nedeniyle ışın kaynağında oluşan dalgalanmalar önemli derecede giderilebilir.

Probe-Tip (Elektrot) Fotometreler

Şekil-9'da bir daldırmalı fotometrenin şematik diyagramı verilmiştir. Bunda kaynaktan ışığın geçirilmesi bir optik fiberle yapılır. Işık, fiberin ucu ile bir ayna arasında bulunan çözelti tabakasına geçirilir; fiberin ucu cam ile kapatılmıştır. Aynadan yansıyan ışın ikinci bir cam fiberden bir fotodiyod dedektöre geçer. Fotometrede, ışık kaynağı ile eşanlı çalışan elektronik kesicili bir amplifikatör vardır; böylece, fotometre fazla ışını almaz. Altı girişim filtresi bulunur. Bunlar cihaz panelindeki bir düğme ile değiştirilebilir. Prob uçları paslanmaz çelik, pyreks, asite dayanıklı plastiktir.

Işık yolu 1mm-10 cm olabilir.



Şekil-9: Bir prob tip fotometre

Absorbsiyon Analizlerinde Filtre Seçimi

Fotometrelerde her biri spektrumun belirli bir kısmını geçiren bir kaç filtre bulunur. Analizde uygun bir filtrenin seçimi çok önemlidir, çünkü ölçüm hassasiyeti doğrudan bu seçime bağlıdır. Absorblanan ışının rengi çözeltinin kendi renginin tamamlayıcısıdır. Örneğin, bir sıvının kırmızı görülmesi sıvının spektrumdaki kırmızı kısımları geçirmesi yeşil kısımları absorblamasından ileri gelir. Konsantrasyonla değişen yeşil ışının şiddetidir; bu nedenle yeşil bir filtre kullanılması gerekir. Genel olarak bir fotometrik analiz için en uygun filtre, analiz edilen çözeltinin renk tamamlayıcısı olanıdır. Renk tamamlama özelliğini gösteren bir kaç filtre varsa bunlardan, örneğin en yüksek absorbansı (veya en düşük geçirgenliği) göstereceği filtre tercih edilir.

Ultraviyole Absorbsiyon Fotometreleri

Ultraviyole fotometrenin en önemli uygulaması yüksek-performanslı sıvı kromatografisinde dedektör olarak kullanılmasıdır. Bu uygulamada kaynak olarak bir civa buharı lambası bulunur ve 254 nm'deki emisyon bandı filtrelerle yok edilir. Bu tip dedektörler sıvı kromatografisi bölümünde detaylı olarak incelenecektir.

Ultraviyole fotometreler, fabrikalardaki gaz veya sıvı akımların içerdiği bir veya daha çok sayıdaki bileşenlerinin konsantrasyonlarını izlemekte (sürekli olarak) de kullanılır. Tipik uygulamalar arasında atık suda fenol, gazlarda klorür, civa, veya aromatiklerin izlenmesi ve atmosferde hidrojen sülfür/sülfür dioksit oranının saptanması sayılabilir.

2. Spektrofotometreler

Görünür Bölgede Çalışan Cihazlar

Genel görünür bölge olan 380-800 nm arasında çalışan çeşitli spektrofotometreler bulunur; cihazlar bu limitler içinde fakat değişik aralıklarda çalışacak şekilde dizayn edilebilirler.

Görünür bölge spektrofotometreleri çoğunlukla basit, tek-yollu, gratingi (prizma sistemi) bulunan ve çok pahalı olmayan aletlerdir; kutu içinde ve taşınabilir tipleri çok kullanılır. Kullanım amacı kantitatif analizlere yöneliktir.

Şekil-10'da tipik iki görünür spektrofotometrenin şematik diyagramı verilmiştir. Şekil-10a'da Bausch and Lomb Spektronik 20'nin şematik diyagramı görülmektedir. Tungsten-filamen ışık kaynağından çıkan ışındaki dalgalanmaları düzenlemek amacıyla kaynaktan önce bir referans fototüp konmuştur; böylece lambaya sürekli sabit bir akım verilme zorunluluğu giderilmiştir. İki fototüp arasındaki sinyal yükseltilerek 5.5 inc skalalı bir ölçme aletine gönderilir; skala geçirgenlik ve absorbansa göre kalibre edilmiştir.

Spektronik 20'de, kuvet (örnek hücresi) tutucusundan çıkarıldığı zaman otomatik olarak ışın ile dedektörün arasına giren bir kapak sistemi bulunur; böylece %0 T ayarı ve kontrolü yapılabilir. Şekil-10a'da görülen ışık kontrol sistemi ise V-şeklinde bir yarıktır; göstergede %100 T ayarı bu yarığı hareket ettirerek yapılır.

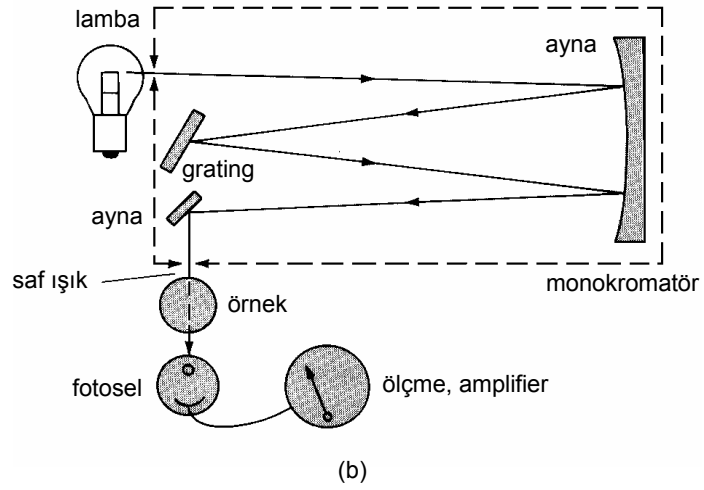
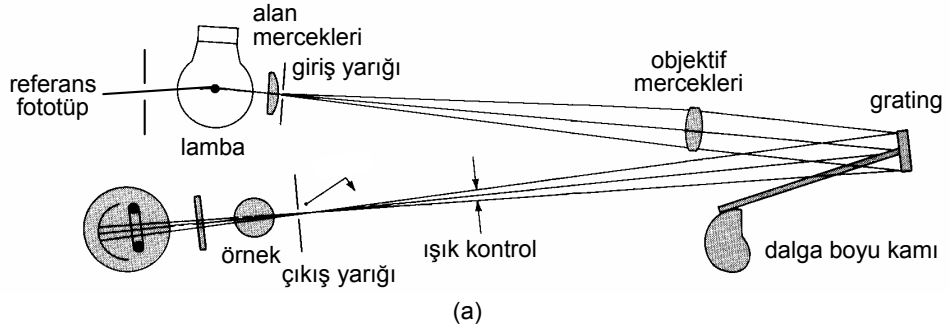
Spektronik 20'nin çalışma aralığı 340-625 nm'dir; bir fototüp ile üst sınır 950 nm'ye çıkarılabilir. Cihazda 20 nm genişliğinde band elde edilebilir ve dalga boyu ölçümünde ki hassasiyet ± 2.5 nm'dir.

Şekil-10b'deki Turner cihazında bir tungsten filamen kaynak, "Ebert yerleşimli" bir düzlem yansıtma gratingi, ve 210-710 nm aralığında hassas bir fototüp dedektör bulunur. Sonuçların okunduğu sistem geçirgenlik ve absorbansa göre kalibre edilmiştir; skala 4 veya 7 inc olabilecek şekilde iki tiptir. Önce, bir kapak ile lamba ve dedektörün birbiriyle ilişkisi kesilerek geçirgenlik sıfıra ayarlanır. Işın yolu üzerine solvent hücresi konulur ve sabit ışık gücü geçirgenlik %100 olacak şekilde ayarlanır. Bu işlemlerden sonra skalada örneğin geçirgenliği veya absorbansı doğrudan okunur. Cihaz 9 nm kalınlığında band verebilir ve dalga boyu ± 0.2 nm hassasiyetle saptanabilir. Fotometrik doğruluk %0.5 A dır.

Turner cihazı ile çeşitli aksesuarlar kullanılabilir. Deuteryum lamba ile 210 nm'ye, ilave bir fototüp ile de 1000 nm ye kadar ölçmeler yapılabilir.

Ultraviyole - Görünür Bölgeyi Kapsayan Tek - Işın Yollu Cihazlar

Bazı cihazlar hem ultraviyole ve hem de görünür bölgede çalışabilecek şekilde dizayn edilmişlerdir. Bu tip cihazlardan 190-210 nm alt limitlerden 800-1000 nm üst limitlere kadar çıkan modeller vardır. Bunların hepsinde değiştirilebilen tungsten ve hidrojen (veya deuteryum) lambalar bulunur. Çoğunda dedektör olarak fotomultipler tüpler, dağıtıcı olarak da grating kullanılır. Bazılarında okuma sistemi digital, bazılarında skalalıdır.

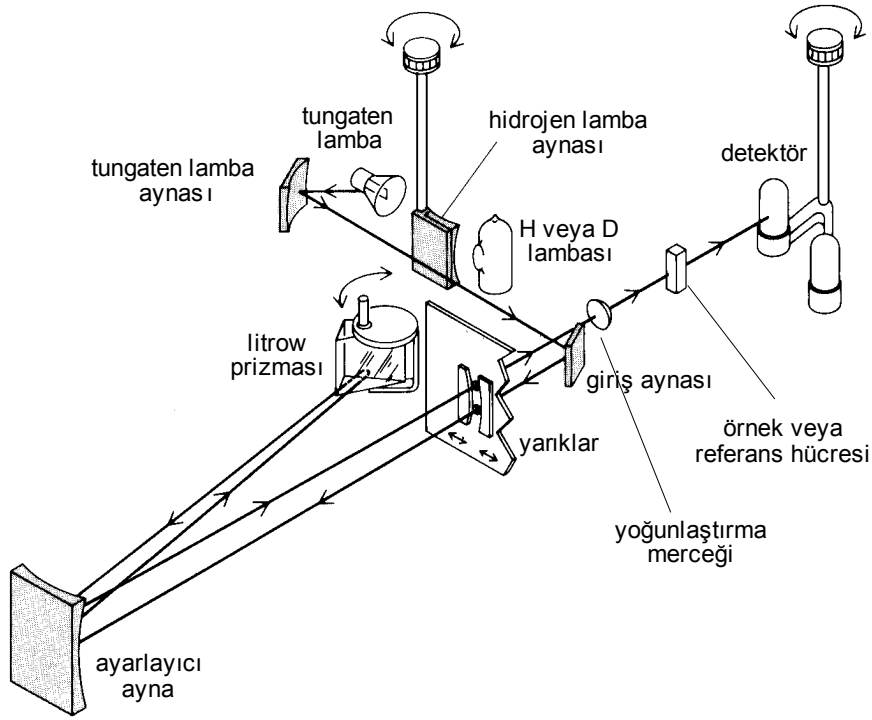


Şekil-10: Band spektrofotometrelere iki örnek; (a) Spektronik 20 (Bausch and Lomb), (b) Turner 350 (Amoco Instrument Company)

Bu tip cihazların performans özellikleri oldukça farklıdır ve tabii fiyatları da birbirinden çok değişiktir. Örneğin band genişliği 2-8 nm'ye, dalga boyu hassasiyeti ± 0.5 - ± 2 nm ye kadar farklı cihazlar bulunur.

Çeşitli gratingli cihazların optik dizaynları Şekil-10'da anlatılan sistemlerden çok farklı değildir. Düzlem grating yerine konkav grating kullanılabilir.

Şekil-11'de, ultraviyole ve görünür bölgede çalışabilen, tek-ışın yollu Beckman DU-2 spektrofotometresinin şematik diyagramı verilmiştir. Bu cihazda grating yerine bir Littrow prizması bulunur. Cihaz ilk defa 1941'de pazarlanmıştır, ilk ticari spektrofotometredir. Optik sistemi oldukça yüksektir. Cihazın optik sistemi dizaynı hala bazı imalatçılar tarafından kullanılmaktadır.



Şekil-11: Beckman DU-2 spektrofotometresinin şematik diyagramı

DU-2 spektrofotometrede spektrumun ultraviyole ve görünür bölgelerinde çalışabilen kuvarz optik sistemler bulunur. Işın kaynakları, düşük dalga boylarındaki çalışmalar için deuteriyum veya hidrojen deşarj tüpleri, görünür bölge için de tungsten filamen lambasıdır; kaynaklar kullanım amacına göre değiştirilebilir. Işın bir çift ayna ile yansıtılarak ayarlanabilir bir slitten (yarık) monokromatör bölgesine geçirilir, buradan paralelleştirici ayna ile bir Litrow prizmaya gönderilir; prizmanın konumu ayarlanarak istenilen dalga boyundaki ışık çıkış slatine odaklanır. Optik sistem, slitlerden giren ve çıkan demetler dik bir ekseninde üst üste bulunacak şekilde ayarlanmıştır; çıkan ışın monokromatörü giriş aynasının üstündeki slitten geçerek terk eder.

Hücre bölmesinde hücrelerinin konduğu bir tutucu kompartman vardır; tutucunun konumu değiştirilerek hücrelerden herhangi biri ışın yolu üzerine getirilebilir (silindirik şeklinde veya 10 cm'lik hücrelerle de çalışılabilir).

Orijinal DU-2 spektrofotometrelerde biri 190-625 nm, diğeri 625-800 nm aralığında olan değiştirilebilir iki dedektör kullanılır. Gilford, Instrument DU-2 için, bir fotometre modernizasyon sistemi geliştirmiştir. Sistemde, iki dedektörün (fototüp) dalga boyu aralığını kapsayan tek bir fotomultiplier kullanılır. Işın dedektörden sonra bir yükseltici devresine gönderilerek transduser sinyali absorbansla doğru orantılı olan voltaja çevrilir; okuma dijital olarak yapılır. Yine Gilfordun geliştirdiği bir aksesuar ile hücre taşıyıcı kompartman, saniyede beş devir hızla salınım yaparak örnek ve referans hücrelerini sırayla ışın yolu üzerine getirir. Böylece cihaz absorbans değerlerini otomatik olarak okur. Dalga boyu, slit-yürütme mekanizması ve bir kaydedici ilave edilerek spektrumun çizilmesi sağlanabilir.

Geliştirilmiş DU-2 spektrofotometrelerde yüksek-kaliteli elektronik kompartmanlar kullanılarak fotometrik hassasiyet ± 0.5 A kadar yükseltilebilir, slit ayarının uygun bir şekilde değiştirilmesiyle 0.5 nm'den daha dar band genişlikleri elde edilebilir (daha önce görülen gratingli cihazlarda sabit slit açıklıklarından çalışılır).

Otomatik olmayan DU-2 spektrofotometreler daha çok belirli dalga boylarındaki kantitatif analitik ölçmelerde çok kullanılan cihazlardır.

Tek-Işınlı (Yollu) Bilgisayarlı Spektrofotometreler

190-800 nm (bir aksesuar ile 900 nm'ye kadar) aralığında çalışan bilgisayarlı, kaydedicili, tek demetli spektrofotometreler yapılmıştır. Bu cihazlarla önce, ışın demeti yolunda referansla bir dalga boyu taraması yapılır. Alınan dedektör çıkışı rakamsal veriye dönüştürülerek bilgisayarın hafızasında saklanır. Sonra örnek taranır ve saklanan verinin yardımıyla absorbans hesaplanır. Spektrumun tamamı bir katod-ışını tüpünde iki saniye içinde görüntülenir. Tarama hızı 1200 nm/dak dır. Cihaza bağlı olarak çalışan bilgisayar çeşitli işlemler yapar; log absorbans, geçirgenlik, türev alma, görüntüleme, taramaların tekrarlanması, konsantrasyon hesapları, pik konumu ve yükseklik tayinleri, ve kinetik ölçmeler, gibi.

Daha önce de değinildiği gibi tek-kanallı cihazların çıkışı yüksek enerjilidir ve sinyal/gürültü oranları büyüktür ve örnek bölmelerinde gürültü oldukça azdır. Diğer taraftan, referans ve örnek çözeltilerinden alınan dedektör çıkışlarını sırayla kaydetme işlemi, kaynaklar ve dedektörlerdeki Flicker gürültüsü nedeniyle fazla hassas olmaz. İmalatçı firmalar bu kararsızlığın yeni kaynak dizaynı ve fotodedektördeki hafıza etkilerini giderebilecek yeni bir elektronik dizaynla giderilebileceğini belirtmektedirler.

Bu cihazların fotometrik doğrulukları ± 0.005 A veya $\pm \%0.3$ T olarak saptanmıştır; kayma 0.002A/s den daha küçüktür. Sabit yarıkların el ile değiştirilmesiyle 0.5, 1, ve 2 nm band genişlikleri elde edilebilir.

Ultraviyole - Görünür Bölgede Çalışan Çift - Işın Yollu Cihazlar

Ultraviyole-görünür bölgede çalışan çift-ışın yollu değişik spektrofotometreler bulunur. Bu tip cihazlar tek-demetli olanlara göre çok pahalıdır. Çok geliştirilmiş olan tipleri genellikle 185-3000 nm gibi geniş bir aralığı kapsar.

Şekil-12'de iki ayrı spektrofotometre görülmektedir. Üstte bulunan, otomatik olmayan bir ultraviyole-görünür spektrofotometredir; bu cihaz diğerine göre daha ucuzdur ve ışını dağıtmak ve giriş slitine göndermek için konkav bir gratingden yararlanılmıştır (Hitachi Model 100-60). Bir motorla döndürülen sektör aynası demeti ikiye böler; bunlardan biri örnekten diğeri referanstan geçer ve tekrar birleşerek bir alternatif akım sinyali oluştururlar (iki ışının güçleri aynı olmamak koşulu ile). Bu sinyal büyütülür ve P ve P₀ oranı şekline dönüştürülür. Okuma bir skala vasıtasıyla veya dijital olabilir, bir kaydedici bulunması halinde veriler grafik olarak elde edilir.

Şekil-12(b)'de yüksek performanslı kaydedicili bir spektrofotometrenin şematik diagramı görülmektedir (Varian Cary Model 219). Basit cihazlara göre böyle bir cihazın fiyatı oldukça yüksektir.

Cary cihazının önemli bir özelliği çift-geçişli optik sisteminin bulunmasıdır; ışın örnek ve referans hücrelerine gönderilmek üzere ikiye ayrılmadan önce bir grating tarafından iki kere yansıtılır ve kırılır. Etki, bir çift monokromatördeki etkinin aynıdır ve saçılan ışının dağılımı fazlalaşır.

İki cihazın performans özellikleri oldukça farklıdır. Hitachi cihazı için, 220 nm'de rasgele ışın %0.07'den az, dalga boyu doğruluğu ± 0.4 nm ve dalga boyu hassasiyeti (tekrarlanabilirliği) ± 0.2 nm'dir. Aynı özellikler Cary cihazında sırasıyla %0.002'den az, ± 0.2 nm ve ± 0.1 nm'dir. Hitachinin potansiyometrik doğrusallığı 0.005-0.01 A, Carynin ise 0.0016-0.003 A'dır.

Ayrıca Cary cihazında sekiz (Hitachide üç) kaydedici aralığı, otomatik slit kontrolü, otomatik %0 T ayarı, ve konsantrasyonu digital olarak gösteren sistem de bulunur. Bir çok uygulamada, Şekil-12(a)'da görüldüğü gibi basit ve ucuz cihazlar kullanılarak yeterli sonuçlar alınabilir.

Tek - Işın Yollu ve Çift - Işın Yollu Cihazların Kıyaslaması

P ve P_0 'ın ölçülmesi, anında yapılması gereken işlemler olduğundan çift-ışınlı bir cihaz bu gerekleri en iyi şekilde karşılar, ayrıca kaynaktaki, dedektördeki ve amplifierdeki zamana bağımlı hataları, ve kısa süreli elektriksel dalgalanmaları giderir. Bu nedenlerle çift-demetli bir spektrofotometrede, tek-demetli spektrofotometrede olduğu kadar hassas elektriksel sistemlere gerek yoktur. Böyle bir avantajın dışında çift-demetli bir spektrofotometrenin sistemleri yine de daha özel ve karmaşıktır.

Tek-demetli cihazlar, tek bir dalga boyundaki absorbans ölçümleri ile yapılan kantitatif analizlerde çok iyi sonuçlar verirler. Burada cihazın basitliği ve bakımının kolaylığı önemli bir avantajdır. Diğer taraftan ölçümlerin süratli ve absorbansın pek çok dalga boyunda ölçülebilmesi çift-demetli cihazların kalitatif analizlerdeki en önemli üstünlüğü olarak kabul edilir.

Çok Kanallı Absorbsiyon Cihazları

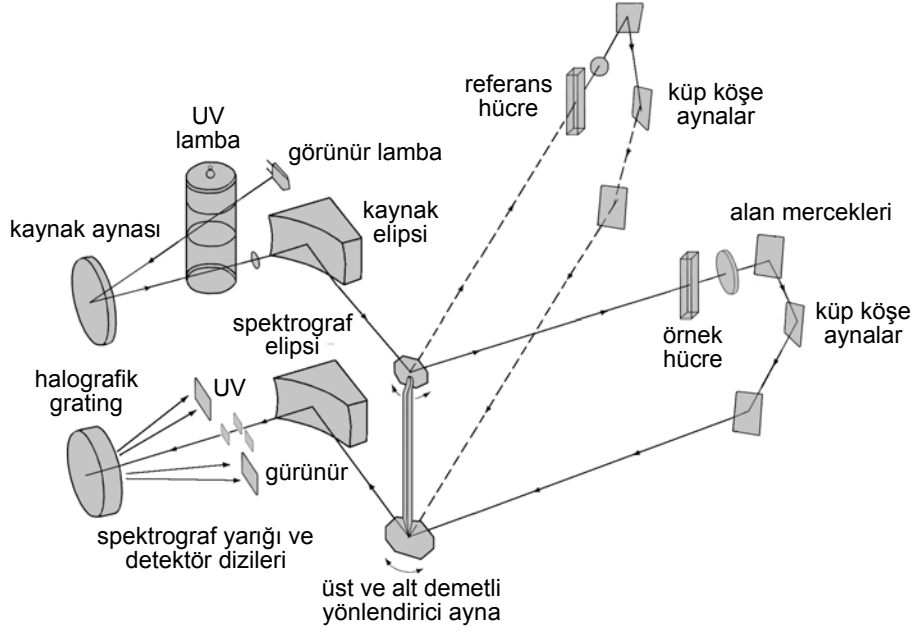
1970'li yılların ortalarında literatürde, spektrokimyasal ölçmelerde dedektör olarak silikon diod dizilerinin ve vidicon tüplerinin kullanıldığı çeşitli yayınlar bulunmaktadır. Bir monokromatörün odak düzleminde bu tip dedektörlerin bulunması halinde spektrum elektronik tarama (mekanik değil) ile elde edilir; bir spektrumu tanımlayan tüm veriler aynı anda alınır. Kontrol görevi yapan mikroişlemciler gibi çok kanallı dedektörler de çeşitli kaynaklardan sağlanabilir. Bu kaynaklardan bazıları spektrofotometre üreten firmalardır. 1980'e kadar ultraviyole-görünür bölgelerde absorbsiyon analizine uygun elektronik çok kanallı cihazlar üretilmedi.

Şekil-13'de 200-800 nm aralığında absorbsiyon ölçmelerinde kullanılan bir çok kanallı (veya paralel yollu) spektrofotometrenin şematik diyagramı görülmektedir. Diğer ultraviyole-görünür absorbsiyon cihazlarının tersine, örnek hücresi kaynak ve monokromatör arasına yerleştirilmiştir. Spektrumun tüm elementlerinin aynı anda gözlenebilmesi yönünden bu yerleşim konumu zorunludur.

Şekil-13'deki cihazda bir tungsten/halojen lambası ve bir deuteryum lambasından oluşan kaynak sisteminin konumu oldukça ilginçtir; bunlar, lamba odası yarığında 200 nm'den 800 nm'ye kadar sürekli bir ışın demeti verebilecek şekilde yerleştirilmişlerdir. Böylece kaynağın anahtarla ayarlanmasına gerek olmaz. Diğer önemli bir özellik bir kaynak elipsi ve bir spektrometre elipsi içeren çift elipsoidal optik sistemidir; Bu düzen küresel optiklerle elde edilenden daha yüksek bir ışın enerjisi yaratır.

Lamba yarığı ve örnek bölmesi bir elipsin iki odağında, örnek bölmesi ve monokromatöre giriş sliti diğer elipsin iki odağında bulunur. Bu düzen, referans ve örnek hücreleri arasındaki alanda üç ilave örnek hücresi ve küp köşe aynaları konulmasına olanak verir (Şekil-13). Buradaki beş ışın demeti ile, dört örneğin absorbsiyon spektrası 6.4 saniye gibi bir zaman içinde alınabilir.

Bu cihazın önemli bir parçası, bir motor-sürücülü dikey shaft üzerine yerleştirilmiş bir çift düz aynadan oluşan servo-kontrollü demet yönlendiricisidir. Üstteki ayna demeti önce referans ve sonra da örnek hücrelerine yönlendirir. Alttaki ayna demeti sırayla spektrografın elipsoidal giriş aynasına yansıtır. Giriş yarığının iki çenesinin dış yüzeyleri uygun bir şekilde aynalanarak demetin kenarları iki büyük alanlı fotodioda yansıtılır. Demetin her zaman yarık üzerinde odaklanması ayna shaftının konumu ayarlanarak sağlanır; ayarlama, bir servo mekanizmanın iki diodla kontrol edilmesiyle sağlanır.



Şekil-13: Bir çok kanallı çift-demetli spektrofotometre, HP 8450 A

Monokromatör, tek bir madde üzerinde yerleştirilmiş iki holografik gratingdir. Gratingler birbirine göre 3.5 derece eğimdedirler; böylece, 200-400 nm aralığında kırılan ışın bir dedektöre yönelirken 400-800 nm aralığındaki diğer dedektöre geçer.

Dedektörlerin her birinde 211 silikon diod, depolama kapasitörleri, ve 1/1 inç kadar uzunluktaki bir yarıiletken çip üzerinde oluşturulmuş transistör anahtarları bulunur; her diodun aktif yüzeyinin boyutları 0.6 x 0.5 mm dir (yarık görüntüsünün boyutları ile aynıdır). Bu durumda cihazın band genişliği 200-400 nm bölgesinde 1 nm, 400-800 nm bölgesinde 2 nm'dir. Ciplerde, her kapasitörü seri olarak yükleyebilen devre vardır. Yükleme akımının integrasyonu, kuvvetlendirilmesi ve gürültü düzeltilmesi bir önampifikatörle yapılır. Sinyal bundan sonra bir analog-dijital çeviriciden geçerek, absorbans veya geçirgenliğin küçük bir katot-ışını tüpünde görüntülenmesini sağlayan 16-bitlik bir mikro, işlemciye gider. Veriler bir 32K RAM de saklanarak daha sonra bir kaydediciye gönderilebilir. Mikroişlemci diğer

bazı fonksiyonları verebilecek şekilde programlanabilir; konsantrasyon ve standart sapmaların hesaplanması, pik maksimalarının bulunması, standartlarla kalibrasyon için eğri-yerleştirme, ve absorblayan karışımlardaki her bir bileşenin konsantrasyonunun hesaplanması, gibi. Konsantrasyon hesaplamalarında her bileşenin standart çözeltilerinin spektrumları önceden hafızada depolanır. Bilinmeyen bir maddenin kantitatif verileri, buna en çok benzeyen bir spektrumun saptanması ve hafızadaki bilgilerin senteziyle bulunur.

Tam bir spektrumun alınabilmesi ve işlenebilmesi için gerekli gerçek ölçüm zamanı 1 saniyeden daha azdır. Ölçüm sırası demetin, dedektöre ışın ulaşmayacak şekilde yönlendirilmesi sırasındaki ölü akımın saptanmasıyla başlar. Yönlendiriciye sonra, demeti örnek konumuna çevirecek şekilde komut verilir. Demetin doğru konumda olduğu belirlendikten sonra her bir diod kapasitörüne seri halde akım yüklemesi başlar. 422 kapasitörün yüklemesi tamamlandığında ışın demeti referans hücreye döndürülür ve aynı işlem tekrarlanır. Son olarak, demet tekrar ölü konuma getirilerek tekrar bir ölü akım ölçümü alınır. İstenilirse, işlem birkaç kez tekrarlatılarak sinyal/gürültü oranlarını yükseltmek için verilerin ortalaması alınabilir.

Fotobozunma göstermeyen (veya çok az gösteren) yüksek derecede foto hassas analitler için bile örneklerin ultraviyole ışınla teması çok kısa tutulmalıdır. Bundan başka, fluoresans girişimi en düşük düzeyde bulunmalıdır; fluoresans küresel olarak emitlendiğinden, demet yolundaki fraksiyon cihazın gürültü sınırından daha az olur. Son bir önemli konu da ters-optik dizaynının, örnek ve referans çözeltileriyle kaynak ve monokromatör arasına yerleştirilmesidir; böylece, spektrofotometrelerde zorunlu olan ışık-geçirmez örnek ve referans çözelti bölmelerine gereksinim olmaz.

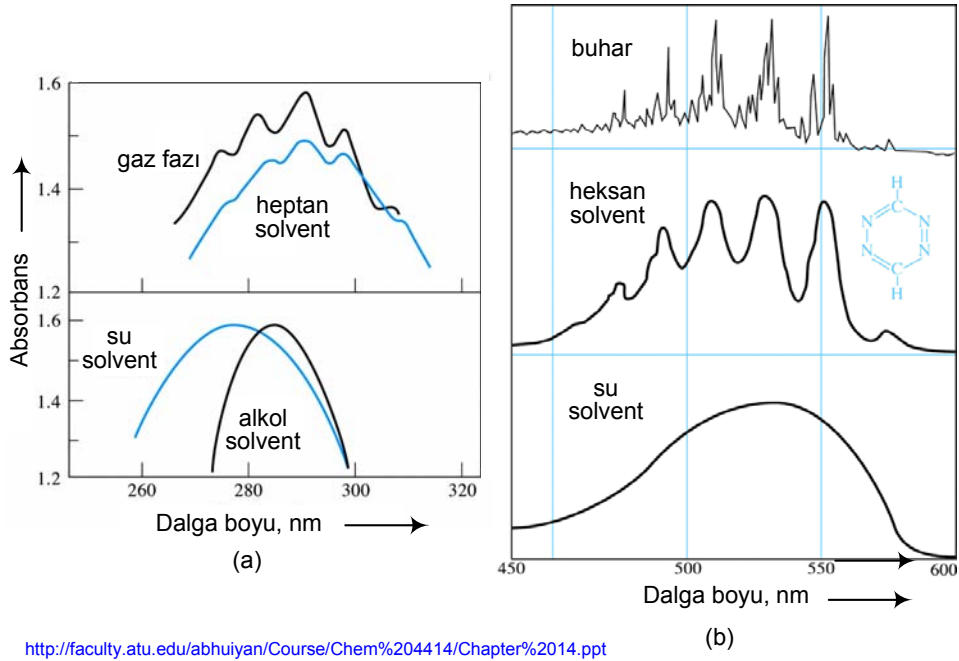
Şekil-13'deki cihazla çok bileşenli karışımların kantitatif analizleri, hızlı orta dereceli reaksiyonların ara kademeleri çalışmaları, kinetik incelemeler ve sıvı kromatografisi veya diğer tip kolonlardan alınan bileşenlerin kantitatif analizleri yapılabilir. Cihazın dezavantajları, spektrofotometrik çalışmalardaki sınırlı çözünürlük (UV'de 1 nm, görünür bölgede 2 nm) ve çok pahalı olmasıdır.

ABSORBSİYON ÖLÇMELERİNİN KALİTATİF ANALİZLERE UYGULAMASI

Ultraviyole ve görünür spektrofotometre, kapsadığı dalga boyu aralığında oldukça az sayıda maksimum ve minimum absorpsiyon bandı bulunabildiğinden kalitatif analiz uygulaması sınırlı bir analiz yöntemidir. Bu nedenle yanlış tanım ihtimaliyeti hemen hemen yoktur.

Solventler (Çözücüler)

Solvent seçiminde solventin geçirgenliği ve absorblayan sisteme olabilecek etkileri bilinmelidir. Oldukça genel bir kurala göre su, alkoller, esterler, ve ketonlar gibi polar solventler, titreşim etkileri nedeniyle spektrumun düzgün yapısını bozarlar.



<http://faculty.atu.edu/abhuiyan/Course/Chem%204414/Chapter%2014.ppt>

Şekil-14: (a): Asetaldehitin, ve (b) 1,2,4,5-tetrazinin absorpsiyon spektrumlarına solventin etkisi

Örneğin asetaldehitin (Şekil-14a) gaz fazındaki spektrumu heptan gibi polar olmayan bir solventteki spektrumu ile yaklaşık aynı görünümü verdiği halde, su veya alkoldeki çözeltilerin spektrumlarından oldukça farklıdır. (Benzer bir durum Şekil-14 (b)'deki 1,2,4,5-tetrazinde de görülmektedir.) Ayrıca, absorpsiyon maksimumları da solventin cinsinden etkilenir; absorpsiyon spektrumlarında tanım amacı ile yapılan kıyaslamalarda örnek ve şahit için aynı solvent kullanılmalıdır. Tablo-6'da bazı çok kullanılan solventler ve bunların uygun oldukları en düşük dalga boyları verilmiştir. Verilen değerler solventin saflığına çok bağlıdır.

Tablo-6: Ultraviyole ve Görünür bölgede Kullanılabilecek Solventler

Solvent	Yaklaşık geçirgenlik (min), nm	Solvent	Yaklaşık geçirgenlik (min), nm
Su	180	Karbon tetraklorür	260
Etanol	220	Dietyl eter	210
Heksan	200	Aseton	330
Sikloheksan	200	Dioksan	320
Benzen	280	Sellosolv	320

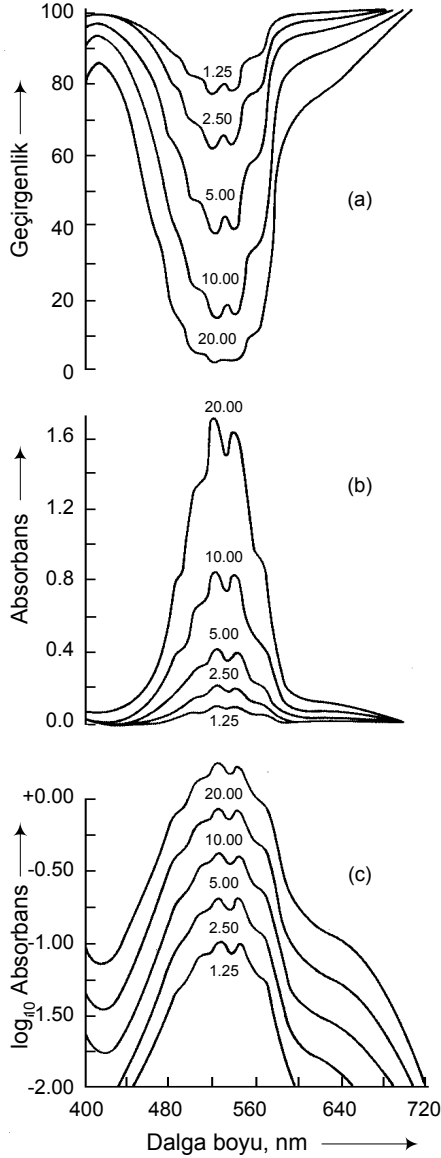
Spektrum Çizme Yöntemleri

Şekil-15'de permanganat çözeltinin değişik ordinatlara göre absorpsiyon spektrumları çizilmiştir. Geçirgenlik eğrileri arasındaki en büyük farklılık %20-60 bölgesinde görülür. Tersine absorpsiyon eğrileri arasındaki en büyük farklılık da geçirgenliğin en düşük veya absorpsiyonun en yüksek (0.8-1.6) olduğu bölgededir.

Şekil-15(c)'deki log absorpsiyon eğrisi spektrumu kıyaslama yönünden avantajlıdır. Beer kanunu aşağıdaki şekilde yazılırsa

$$\log A = \log \epsilon + \log b c$$

eşitliğin sağ tarafındaki terimlerden sadece ϵ 'nin dalga boyu ile değiştiği görülür. Böylece, bir örneğin konsantrasyonu veya ölçümün yapıldığı hücrenin kalınlığı değiştiğinde log A'nın mutlak değeri de değişir, fakat bandın bulunduğu dalga



boyu aynı kalır. Bu etki Şekil-15(c)'de açıkça görülmektedir. $\log A$ eğrisi A eğrisi ile (Şekil-15b) kıyaslandığında kalitatif amaçlı çalışmalarda birincinin daha uygun olduğu görülür. $\log \varepsilon$ eğrisinin de aynı amaçla kullanılacak bir eğri olduğunu belirtmek gerekir.

Fonksiyonel Grupların Saptanması

Ultraviyole ve görünür bölge organik maddelerin tanımında uygun bir bölge olmamakla beraber yine de kromofor özelliğindeki bazı organik fonksiyonel grupların tanımlanması yapılabilir. Örneğin, 280-290 nm'deki zayıf absorpsiyon bandının solvent polaritesinin artmasıyla daha düşük dalga boylarına kayması, örnekte karbonil grubu bulunduğunu gösterir. 260 nm civarındaki zayıf bir absorpsiyon bandı aromatik bir halkanın varlığının işaretidir.

Bir aromatik amin veya fenolik yapının saptanması için, örneğin bir solventteki çözeltilisinin spektrumuna pH'ın etkisi incelenir ve elde edilen veriler Tablo-4'deki fenol ve anilin için aynı koşullarda bulunan verilerle kıyaslanabilir.

Şekil-15: Absorpsiyon spektrası çizilmesinde üç yöntem; eğrilerin üzerindeki değerler ppm $KmnO_4$ 'i göstermektedir (2.00 cm'lik hücreler kullanılmıştır)

ABSORBSİYON ÖLÇMELERİ İLE KANTİTATİF ANALİZ

Absorbsiyon spektroskopisi kantitatif analizlerde kimyacının yararlandığı en önemli yöntemlerden biridir. Spektrofotometrik ve fotometrik yöntemlerin önemli özellikleri aşağıda sıralanmıştır.

1. Geniş uygulama alanı. Daha önce de değinildiği gibi, pek çok inorganik ve organik madde ultraviyole ve görünür bölgede absorbsiyon yapar, bu nedenle de hassas kantitatif analiz yapılabilir. Ayrıca absorbsiyon yapamayan pek çok madde de uygun kimyasal işlemlerle absorbsiyon özelliği olan maddelere dönüştürülerek analiz edilebilirler.
2. Yüksek hassasiyet. Uygun molar absorbtivite 10000-40000 aralığındadır, özellikle inorganik maddelerin bazı yük-transfer komplekslerinde bu değer oldukça yüksektir; 10^{-4} – 10^{-5} M konsantrasyonlarda hassas analizler yapılabilir; hatta uygun işlemlerle konsantrasyon 10^{-6} M, 10^{-7} M'a kadar düşürülebilir.
3. Orta-yüksek seçicilik. Bir örnekteki sadece absorblayan kısmın tayin edilebileceği bir dalga boyu bölgesi saptanır ve çalışmalar bu bölgede yapılır. Ayrıca, absorbsiyon bandlarının üst üste düşmesi halinde başka dalga boylarında bulunabilecek absorbsiyon bandları ölçümünden yararlanılarak gerekli düzeltmeler yapılabilir; yani ayırma gibi bir işleme gerek olmaz.
4. Doğru veriler. Tipik spektrofotometrik veya fotometrik işlemlerde konsantrasyon ölçmelerindeki relatif hata %1-3 aralığındadır. Gerekli dikkat ve titizliğin gösterilmesiyle bu hatalar binde birkaç seviyesine kadar düşürülebilir.
5. Kolaylık ve rahatlık. Spektrofotometrik veya fotometrik ölçmeler modern cihazlarda çok kolay ve süratle yapılabilir.

Kantitatif absorbsiyon yöntemleri, sadece maddenin miktarını belirten sayısal değerlerin bulunmasına değil, aynı zamanda çeşitli-kantitatif kimyasal bilgilerin elde edilmesine de olanak verir.

Absorblayıcı Maddelere Uygulama

Tablo-2, 3, 4'de pek çok organik kromofor görülmektedir. Bu gruptan bir veya daha fazlasını içeren herhangi bir organik maddenin spektrofotometrik analizi yapılabilir; bu tip analizlere literatürde pek çok örnek bulunabilir.

Bazı inorganik maddeler de absorpsiyon yapabilirler ve doğrudan tayin edilebilirler; çeşitli geçiş metalleri bu tip maddelerdir. Ayrıca, bazı başka tip grupların da özel absorpsiyonları vardır. Bunlar arasında nitrit, nitrat ve kromat iyonları; osmiyum ve rutenyum tetraoksit; moleküler iyod; ve ozon sayılabilir.

Absorpsiyon Yapmayan Maddelere Uygulama

Ultraviyole veya görünür bölgede absorpsiyon yapmayan maddelerle reaksiyona girerek absorblayıcı ürün veren çok sayıda madde vardır. Bu tip maddelerin kantitatif analizlerde başarılı olması için, reaksiyonun sonunda örnek ile renkli bir madde vermesi gerekir. Bunlar, kendileri absorblayıcı maddelerdir, örneğin, geçiş-metal iyonları gibi; ürünün molar absorbtivitesi, reaksiyona giren her iki maddenin molar absorbtivitesinden de daha büyüktür.

İnorganik maddelerin tayini bilinen kompleks yapıcı maddelerle yapılır. Bunlar arasında, demir, kobalt, ve molibden için tiyosiyanat iyonu; titanyum, vanadyum, ve krom için hidrojen peroksit anyonu; bizmut, palladyum, ve tellur için de iyodür iyonu sayılabilir. Bu amaçla kullanılabilen organik şelat yapıcı maddeler katyonlarla kararlı ve renkli bileşikler verdiklerinden daha da önemli bileşiklerdir. Örneğin, demir için o-fenantrolin, nikel için dimetilglioksim, bakır için dietilditiokarbamat, kurşun için de difenilditiyokarbazon kullanılır.

Dalga Boyu Seçimi

Spektrofotometrik absorpsiyon ölçümleri konsantrasyon değişikliği ile absorpsiyon değerinin en fazla olduğu absorpsiyon pikinin bulunduğu dalga boyunda yapılır; böylece en yüksek hassasiyetle çalışılır. Bu bölgede absorpsiyon eğrisi oldukça düzdür ve Beer kanunu ile iyi bir uyum içindedir. Ayrıca cihazın dalga boyu ayarından kaynaklanan hatalar da ölçümleri önemli derecede etkilenmez.

Absorpsiyon spektrumdan, bazı hallerde fotometrik bir analiz için uygun filtre seçimi de yapılabilir; spektrumdan alınabilecek bilgilerin bu konuda yetersiz olması durumunda filtre seçimi 2.1.1. 'deki yöntemlere göre yapılır.

Absorpsiyon Etkileyen Değişkenler

Bir maddenin absorpsiyon spektrumunu etkileyen değişkenler çözücünün yapısı, çözeltinin pH'ı, sıcaklık, yüksek elektrolit konsantrasyonu ve girişim yapıcı madde-

lerdir. Değişkenlerin etkileri önceden bilinmelidir ki, absorbandsın, bu değişkenlerde olabilecek küçük farklılıklardan etkilenmeyeceği koşullarda yapılması sağlanmalıdır.

Hücrelerin Temizlenmesi ve Kullanılması

Doğru bir spektrofotometrik analizde iyi-kaliteli ve aynı özelliklerde hücrelere gereksinim vardır. Hücreler, zamanla özelliğinin bozulup bozulmadığını (aşınma, çizikler oluşması gibi) test etmek için birbirine karşı kalibre edilir. Önemli bir konu da hücreleri yıkama ve kurutmada uygun bir teknik kullanılmasıdır. Örneğin, mercekle temizlemede kullanılacak kalitede bir kağıt parçası spektroskopik saflıkta metanol ile ıslatılır, hücrenin dış kısımları silinir ve yüzeyde kalan metanolün buharlaşması beklenir.

Absorbsiyon ve Konsantrasyon İlişkisinin Saptanması

Analiz koşulları saptandıktan sonra bir seri standart çözelti kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlanır. Standartlar, örneğin konsantrasyonuna yakın değerlerde olmalıdır.

Standart Katma (İlave) Yöntemi

En ideal durum kalibrasyon standartlarının örnek matrisindeki hem analit hem de diğer maddelerin konsantrasyonlarına yakın miktarlarda bileşen içermesidir; böylece, örnekteki diğer maddelerin, ölçülen analit absorbandsına etkisi en aza indirilmiş olur. Örneğin, renkli pek çok metal iyonu komplekslerinin absorbandsı ortamda sülfat veya fosfat iyonlarının varlığında azalır; çünkü bu iyonlar metal iyonlarıyla renksiz kompleksler oluştururlar. Böyle bir durumda elde edilen absorbands değeri gerçek değerinden düşük olur. Sülfat veya fosfatın matris etkisi standartlara, bu iyonlardan örnekte buldukları miktara yakın miktarlarda ilavesiyle yenilir. Ancak, topraklar, mineraller, ve fabrika külleri gibi örneklerin analizinde, örneğe benzer bileşimde standartların hazırlanması olanaksız veya çok zordur. Bu gibi durumlarda matris etkisini yok edebilmek için "standart ilavesi yöntemi" uygulanır.

Standart katma birkaç şekilde yapılabilir. Fotometrik ve spektrofotometrik çalışmalarda en çok uygulanan yöntem, aynı miktardaki örneklerle standart bir çözeltiden artan miktarlarda ilaveler yapılmasıdır. İlavelerden sonra çözelti sabit bir hacme tamamlanır ve absorbandsları saptanır. Örnek miktarı sınırlı ise, belirli bir miktar örneğe standart ilavesi sıra ile yapılır ve ilaveden sonra (ve orijinal örnekte)

absorbans ölçülür. Bu yöntem voltammetrik ve potansiyometrik ölçmelerde çok kullanılır.

Bir örnekten aynı V_x hacminde analit konsantrasyonu C_x olan birkaç kısım alınsın ve hacmi V_t olan volumetrik balonlara konulsun. Balonların her birine, V_s hacminde C_s konsantrasyonunda analit bulunan standarttan değişik hacimlerde ilaveler yapılsın. Sonra renk oluşturan madde konularak her çözelti aynı hacme seyreltilsin. Beer kanunu geçerliyse çözeltilerin absorbansları aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$A_s = \frac{\epsilon b V_x C_x}{V_t} + \frac{\epsilon b V_s C_s}{V_t} \quad (1)$$

A_s yi V_s nin fonksiyonu olarak gösteren grafik aşağıdaki ifadeyle gösteren bir doğrudur.

$$A_s = \alpha + \beta V_s$$

Eğim β ve kesişim α ,

$$\beta = \frac{\epsilon b C_s}{V_t} \quad \text{ve,} \quad \alpha = \frac{\epsilon b V_x C_x}{V_t}$$

dir. β ve α , en-küçük kare analiziyle saptanabilir; bu iki değer oranından ve C_s , V_x , ve V_s nin bilinen değerlerinden de C_x hesaplanır.

$$\frac{\alpha}{\beta} = \frac{\epsilon b V_x C_x / V_t}{\epsilon b C_s / V_t} = \frac{V_x C_x}{C_s}$$

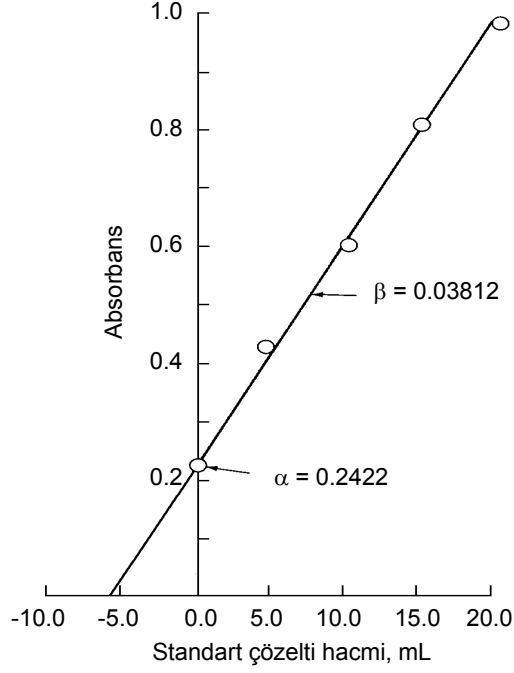
$$C_x = \frac{\alpha C_s}{\beta V_x} \quad (2)$$

C_x deki standard sapmanın yaklaşık değeri, C_s , V_s , ve V_t deki kararsızlıkların α ve β dakine göre ihmal edilebilir olduğu varsayılarak bulunur. Bu durumda $(s_c/C_x)^2$ nin α ve β daki değişikliklerin toplamı olduğu kabul edilebilir. Yani,

$$\left(\frac{s_c}{C_c}\right)^2 = \left(\frac{s_r}{\alpha}\right)^2 + \left(\frac{s \beta}{\beta}\right)^2$$

Buradaki s_r gerilemedeki standard sapmadır. Bu eşitliğin kare kökü alınarak s_c eşitliği yazılır.

$$s_c = C_x \sqrt{\left(\frac{s_r}{\alpha}\right)^2 + \left(\frac{s \beta}{\beta}\right)^2} \quad (3)$$

ÖRNEK

Şekil-16 (a): Fe^{+3} 'ün (SCN^- kompleksi) standart ilavesi yöntemiyle tayini

Doğal su örneğinden, 50.00 ml'lik beş balonjojeye 10'ar ml konulur. 11.1 ppm Fe^{+3} iyonu içeren standart çözülden balonjojelere sıra ile 0.00, 5.00, 10.00, 15.00 ve 20.00 ml ilave edilir, sonra kırmızı $Fe(SCN)^{+2}$ kompleksini oluşturacak kadar tiyosiyanat iyonu eklenir. Balonlar 50 ml'ye su ile tamamlanır. Bu çözeltilerden alınarak yeşil filtreli bir fotometrede absorbanslar ölçülür: 0.215, 0.424, 0.685, 0.826, 0.967 (ölçmelerde 0.982 cm'lik hücreler kullanılmıştır. (a) Su örneğindeki Fe^{+3} konsantrasyonunu; (b) eğimdeki, gerilemedeki ve Fe^{+3} konsantrasyonundaki standart sapmaları hesaplayın

(a) Burada $C_s = 11.1$ ppm, $V_x = 0.00$ ml, $V_t = 50.00$ ml dir. Şekil-16(a)'daki eğri Beer kanununa uygunluğu gösterir. Şekildeki doğrunun denklemini ($A = \alpha + \beta V_s$) elde edebilmek için EK-1, 1.6.2. deki örnekte görülen işlemler yapılır; sonuçta $\beta = 0.03812$ ve $\alpha = 0.2422$ bulunur . Doğrunun denklemi

$$A = 0.2422 + 0.03812 V_s$$

Bu değerler, Denklem(2)'de yerine konularak C_x hesaplanır.

$$C_x = \frac{0.2422 \times 11.1}{0.03812 \times 10.00} =$$

$$C_x = 7.05 \text{ ppm Fe}^{+3}$$

(b) EK-1, Denklem(26) ve (27) eğimin ve gerilemenin standart sapmalarını verir: $s_r = 0.045$ ve $s_c = 0.0029$ dur. Denklem(3)'de yerine konularak s_c bulunur.

$$s_c = \frac{0.045}{0.24422} + \left(\frac{0.0029}{0.0381}\right)^2$$

$$s_c = 0.2 \text{ ppm Fe}^{+3}$$

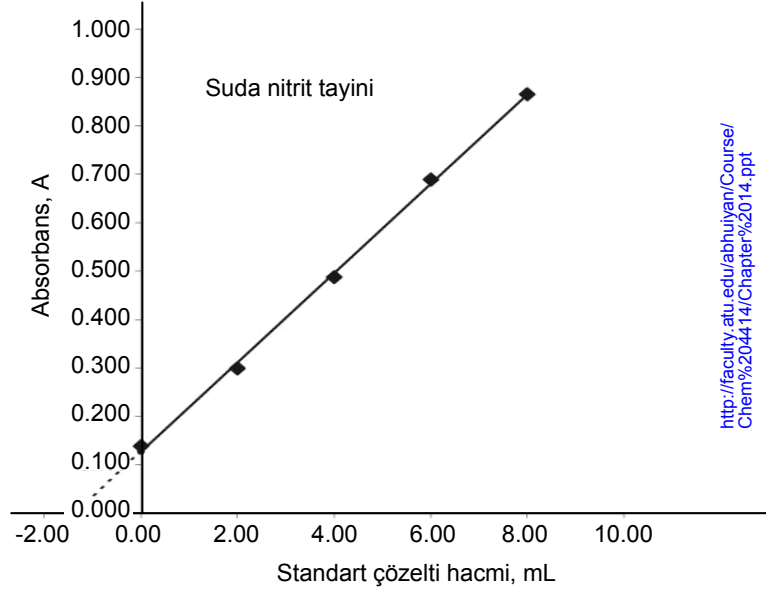
Zaman kazanmak veya az örnek harcamak için sadece iki kısım örnekte çalışılabilir. Örneklerden birine V_s ml standart ilave edilir; bu durumda,

$$A_1 = \frac{\epsilon b V_x C_x}{V_t}$$

$$A_2 = \frac{\epsilon b V_x C_x}{V_t} + \frac{\epsilon b V_s C_s}{V_t}$$

A_1 ve A_2 , sırasıyla seyreltilmiş örnek ve seyreltilmiş örnek + standardın absorbanlarıdır. İkinci denklem birinciye bölünerek C_x çıkarılır.

$$C_x = \frac{A_1 C_s V_s}{(A_2 - A_1) V_x}$$

ÖRNEK

Şekil-16 (b): Suda, standart ilavesi yöntemiyle nitrit tayini

Standard konsant., C_s μL :	10.00	Eğrinin eğimi:	0.0921
Örnek hacmi, V_x , mL:	5.00	Kesişme noktası:	0.1276
İlave edilen standart:		Kesişme nok. hacim:	-1.38545
hacim	A	Örnek konsantrasyonu:	2.7709
0.00	0.139	Hata analizi:	
2.00	0.299	y'de standart hata:	0.01205
4.00	0.488	N:	5
6.00	0.689	S:	40.00
8.00	0.865	y bar:	0.4960
		C'de standart sapma:	.2517
		hacimde standart sapma:	0.1258

Absorblayıcı Maddeler Karışımının Analizi

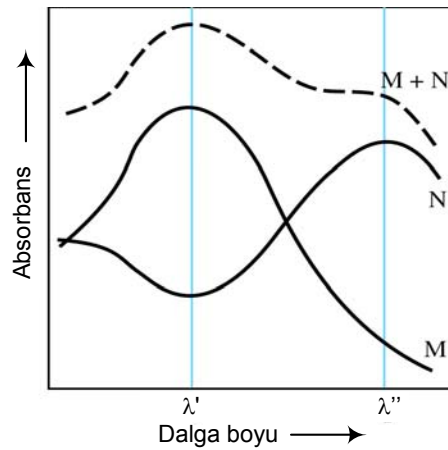
Bir çözeltinin bir dalga boyundaki toplam absorpsiyonu, çözeltide bulunan absorblayıcı maddelerin absorpsiyonları toplamına eşittir. Bu bağıntı, spektra birbiri üzerine düşse bile, bir karışımda bulunan maddelerin her birinin ayrı ayrı analiz edilebilmesine olanak verir. Örneğin, M ve N karışımının spektrumu Şekil-17'deki gibi olsun. Karışımdaki maddelerden sadece birine ait bir dalga boyu yoktur, bu nedenle de M veya N yi tek bir ölçüm ile saptamak olanaksızdır. Karışımın λ' ve λ'' deki iki absorpsansı ile aşağıdaki eşitlikler yazılabilir.

$$\lambda' \text{ de } A' = \epsilon'_M b c_M + \epsilon'_N b c_N$$

$$\lambda'' \text{ de } A'' = \epsilon''_M b c_M + \epsilon''_N b c_N$$

Dört molar absorbtivite ϵ'_M , ϵ'_N , ϵ''_M , ve ϵ''_N , M ve N nin standard çözeltilerinin Beer kanununa göre çizilen eğrilerinin eğiminden bulunabilir. Karışımın absorpsansları A' ve A'' , kalınlığı b olan hücrelerle deneysel olarak saptanır. Bu verilerle yukarıdaki denklemlerden c_M ve c_N hesaplanabilir. Bu yöntem sadece Beer kanununun geçerli olduğu hallerde doğrudur. Bu tip bir analizde en yüksek doğruluğa ulaşmak için molar absorbtivite farklarının en fazla olduğu dalga boylarında çalışılmalıdır.

İkiden fazla absorblayıcı madde içeren karışımların analizi de, örneğin üçlü bir karışımda ilave bir test daha, dörtlü bir karışımda ilave iki test daha olmak üzere, ilke olarak ikiden her fazlalık için birer test ilavesiyle yapılabilir. Çok maddeli karışımlarda madde sayısı arttıkça elde edilen verilerin doğruluğu da azalır.



Şekil-17: İki maddeli bir karışımın absorpsiyon spektrumu

ÖRNEK:

0.246 g çelik asitte çözülüp su ile 250 ml ye seyreltilmiştir. Çözeltide Cr ve Mn tayini yapılmak isteniyor. Örnekten 50 ml alınarak katalitik miktarda Ag^+ iyonlarının bulunduğu bir ortamda potasyum persülfat ilave ediliyor; reaksiyonda Cr, $C_2O_7^{-2}$ ye, Mn da MnO_4^- iyonlarına dönüşür. Çözelti su ile 100 ml ye tamamlanıp, 1.00 cm'lik hücrede 440 ve 545 nm'deki absorpsanları ölçüldüğünde sırasıyla 0.932 ve 0.778 değerleri bulunuyor. Aşağıdaki veriler bilindiğine göre çelikteki Mn ve Cr % leri ne kadardır?

ϵ , nm	ϵ , $Cr_2O_7^{-2}$	ϵ , MnO_4^-
440	369	95
545	11	2350

440 nm'deki absorpsan için,

$$0.932 = 369 \times 1.00 \times M_{Cr} + 95 \times 1.00 \times M_{Mn}$$

545 nm deki absorpsan için,

$$0.778 = 11 \times 1.00 \times M_{Cr} + 2350 \times 1.00 \times M_{Mn}$$

eşitlikleri yazılabilir. Birinci eşitlik M_{Cr} 'ye göre düzenlenip ikinci eşitlikte yerine konursa M_{Mn} değeri bulunur. Bu değer kullanılarak M_{Cr} hesaplanır.

$$M_{Cr} = \frac{0.932 - 95 M_{Mn}}{369}$$

$$0.778 \times 369 = 11 \times 0.932 - 11 \times 95 M_{Mn}$$

$$M_{Mn} = 3.20 \times 10^{-4}$$

$$M_{Cr} = 2.44 \times 10^{-3}$$

Manganın atomik ağırlığı 54.9, kromun 52.0

$$Mn, \% = \frac{3.20 \times 10^{-4} \times 100 (50.0/250) \times 0.0549 \times 100}{0.246}$$

$$Mn, \% = 0.143$$

$$Cr, \% = \frac{2.44 \times 10^{-3} \times 100 (50.0/250) \times 0.0520 \times 100}{0.246} = 1.03$$

Türev Spektrofotometresi

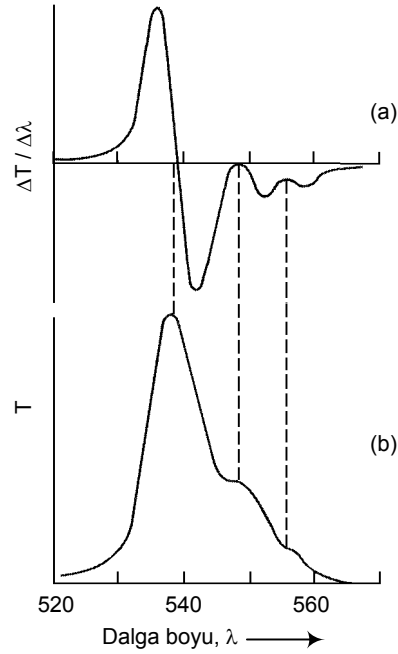
Türev spektrofotometresinde spektrumun ordinat eksenini, absorpsiyonun veya geçirgenliğin dalga boyuna göre birinci veya ikinci türevidir. Şekil-18'deki eğrilerden de görüldüğü gibi böyle bir spektrum (18a), normal bir absorpsiyon spektrumuna (18b) göre spektral detayları daha açık bir şekilde belirtilir.

Türev spektrumları iki türlü elde edilebilir. Bunlardan birisinde, kaydedici bir spektrofotometrenin transduserinden çıkan sinyal elektronik veya mekanik olarak $\Delta T/\Delta\lambda$ şekline dönüştürülür ve bu değerler dalga boyunun fonksiyonu olarak kaydedilir. İkinci yöntemde Şekil-19'da görülen tipte bir "çift-dalga" boyulu spektrofotometre kullanılır. Böyle bir cihaz hem çift-dalga boyulu sistemde, hem de normal çift-demetli sisteme göre çalışabilir. Çift-dalga boyulu sistemde referans hücre kullanılmaz, örnek hücresi sıra ile her bir gratingden gelen ışın yolu üzerine konulur.

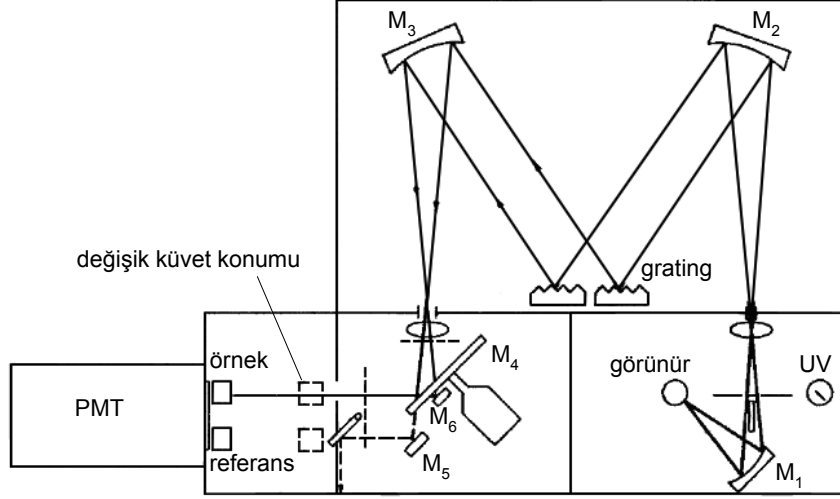
Çift-demetli sistemde ise sadece monokromatör 1 kullanılır ve ışın önce örnekten sonra referansdan geçirilir. Şekil-18'deki gibi bir spektrum çift-dalga boyulu bir cihaz ile elde edilebilir. Monokromatörlerden birinin dalga boyu diğerinden 1-2 nm düşük bir değere ayarlanır, sonuçlar türev olarak kaydediciye geçirilir.

Çift-dalga boyulu spektrofotometrelerle, birbirine benzer spektrumlar veren iki madde karışımındaki maddelerden birinin kantitatif analizi de yapılabilir. Böyle bir durumda monokromatörlerden biri iki maddenin molar absorbtivitelelerinin aynı olduğu bir dalga boyuna ayarlanır. Diğer monokromatör ise analit absorpsiyonunun konsantrasyonla büyük değişiklik gösterdiği bir dalga boyuna ayarlanır.

Elde edilen sonuç sinyali, çözeltideki madde konsantrasyonu ile orantılıdır.



Şekil-18: Bir (a) türev eğrisinin, standart bir geçirgenlik eğrisi (b) ile kıyaslanması



Şekil-19: Bir çift dalga boylu spektrofotometrenin şeması

Çift-dalga boylu spektrofotometrelerin bir diğer kullanım alanı kinetik çalışmalarıdır; bu yöntemle iki maddenin konsantrasyonları izlenebilir. Ayrıca bulanık ortamlarda bulunan bir maddenin absorpsiyon spektrumu da aynı yöntemle çizilebilir.

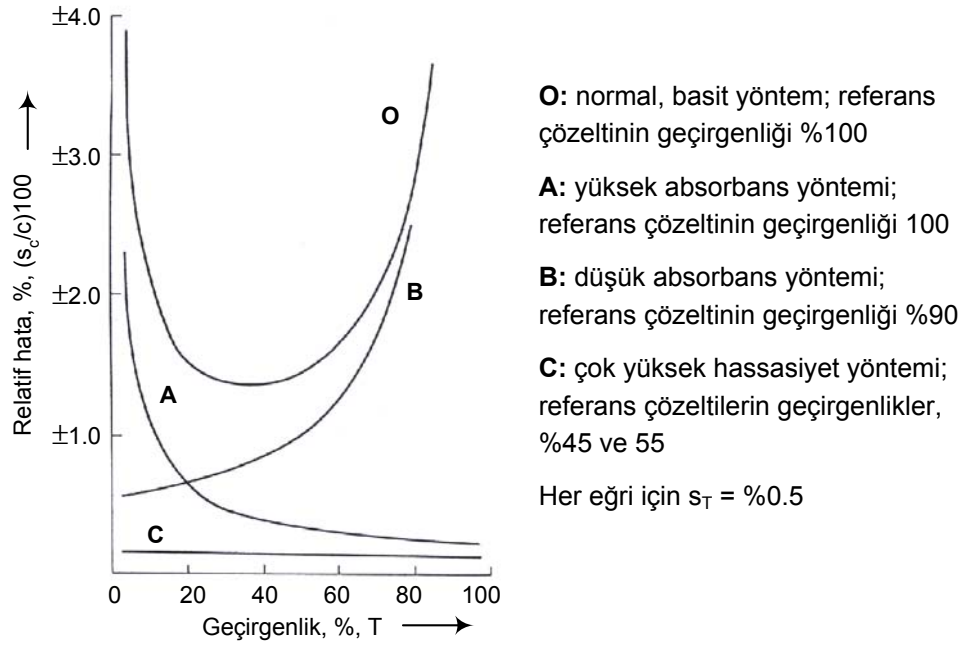
Diferensiyel Absorpsiyon Yöntemleri

Fotometre ve spektrofotometrelerin çoğunda alınan sonuçların doğruluğu okuma sisteminin hassasiyetine bağlıdır. Geçirgenlik (T) ölçümündeki hata (s_T) sabittir ve bağlı (relatif) konsantrasyon hatası aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0.434}{\log T} \times \frac{s_T}{T}$$

Şekil-20'deki O eğrisi "okuma sınırı" kararsızlığının $= s_T \pm 0.005$ olması durumundaki relatif konsantrasyon hatasını gösterir. Bu hata, küçük bir D'Arsoval-tip metre bulunan cihazlarda görülür. Analit konsantrasyonunun %10 T ($A = 1.0$) den daha az veya %70 T ($A = 0.15$) den daha fazla geçirgenlik verdiği değerlerde önemli analitik hatalar ortaya çıkar.

Diferensiyel yöntemlerde okumalar genişletilmiş skalada yapılarak bu nedenle olacak hatalar en aza indirilir. Bu yöntemlerde cihazın sıfır ve/veya %100 geçirgenlik ayarları kapak ve solvent kullanılarak değil maddenin çözeltisi ile yapılır. Tablo-7'de üç diferensiyel yöntemin normal yöntem ile kıyaslaması yapılmıştır.



Şekil-20: Spektrofotometrik analizlerde relatif hatalar (A, B, C eğrilerinin genişletilmiş skaladaki T değerleri Şekil-21'de verilmiştir)

Tablo-7: Absorbsiyon Ölçme Yöntemlerinin Kıyaslamaları

Yöntem	Tanımı ^(a)	%0 T ayarı için	%100 T ayarı için
Basit	O	Kapak	Solvent
Yüksek absorbans	A veya a	Kapak	Örnekten daha az konsantre standart çözelti
Düşük absorbans	B veya b	Örnekten daha fazla konsantre standart çözelti	Solvent
Çok yüksek hassasiyet	C veya c	Örnekten daha fazla konsantre standart çözelti	Örnekten daha az konsantre standart çözelti

Yüksek-Absorbans Yöntemi

Yüksek absorbans yönteminde sıfır ayarı bilinen kapak sistemiyle yapılır; kaynakla dedektör arasına bir kapak konularak ışının dedektöre geçmesi engellenir. % 100 T ayarı için ise, analizi yapılacak maddenin, örnekten daha az konsantre bir standardı ışık yolu üzerine konular ve geçirgenlik %100 e ayarlanır. Son olarak standart çıkarılır yerine örnek hücresi konur ve relatif geçirgenlik doğrudan okunur. Şekil-21(a)'da görüldüğü gibi bu değişikliğin etkisi geçirgenlik skalasının küçük bir bölümünü, %100 olacak şekilde genişletmektir; böylece Şekil-21(a)'nın üst skalasında görüldüğü gibi kullanılan referans standardının geçirgenliği, "saf solventle kıyaslandığında" %10 olduğu halde, örneğin geçirgenliği %4'dür (aynı solvente karşı). Yani, örneğin geçirgenliği standardın geçirgenliğinin onda dördüdür. Standart yerine referans konulması halinde geçirgenlik %100 olacaktır (Şekil-21a'daki alt skala). Örneğin geçirgenliği (referans standardın onda dördü) burada okunan %40 değeri ile aynıdır.

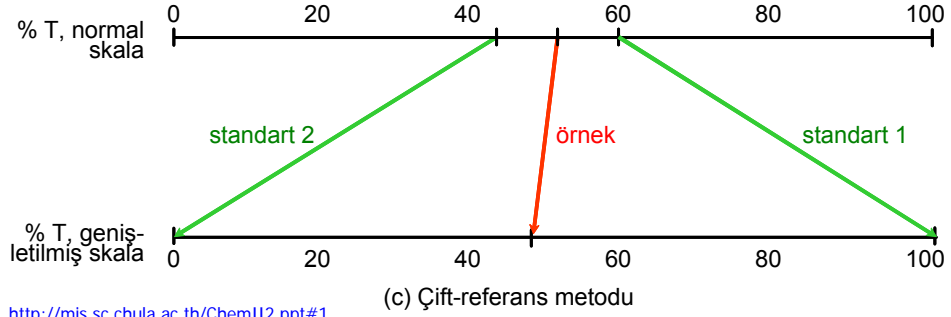
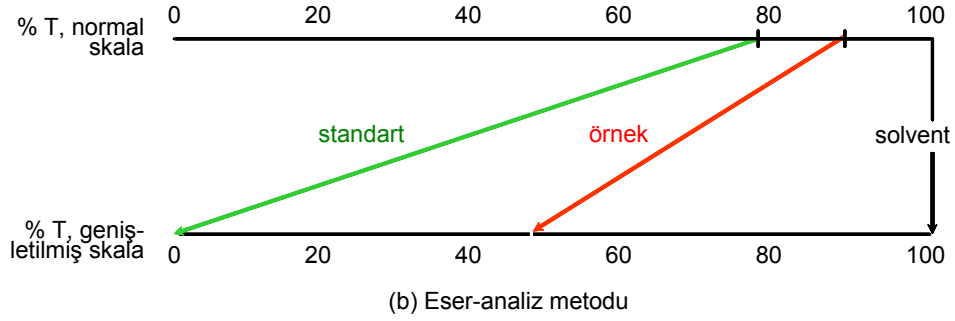
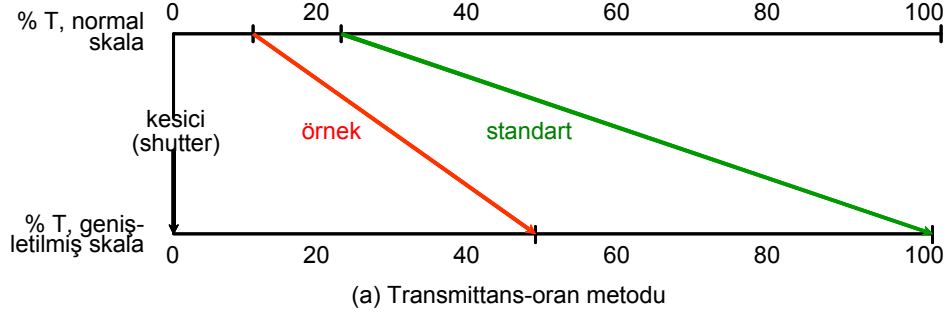
Absorbans ölçümünde cihaz hatası skala değiştirme işleminden etkilenmezse, standardın referans olarak kullanılmasıyla geçirgenlik skalasının orta kısmına ayarlanabilir, burada cihaz hatasının relatif konsantrasyon hatasına etkisi çok azdır.

Konsantrasyon ile yüksek-absorbans yöntemiyle ölçülen relatif absorbans arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu yöntem, özellikle absorbans değerleri 1 den yüksek olan örneklerin analizinde faydalıdır.

Düşük - Absorbans Yöntemi

Bu yöntemde sıfır ayarı için kapak yerine örnekten biraz daha derişik bir standart çözelti kullanılır; %100 ayarı ise ışık yolu üzerine çözgen hücresi konularak yapılır. Örneğin geçirgenliği solvent hücresi çıkarılıp yerine örnek hücresi konularak ölçülür. Bu işlemin etkisi Şekil-21b'de verilmiştir; burada da 4.4.1'de olduğu gibi skalanın küçük bir bölümü %100 geçirgenliğe genişletilmiştir, örneğin geçirgenliği ise genişletilmiş skalanın orta kısımlarında bulunur.

Düşük absorbsiyon yöntemi özellikle absorbansı 0.1'den küçük olan örneklerle uygulanır. Burada bağıl absorbans ile konsantrasyon arasındaki ilişki doğrusal değildir. Bu nedenle analizde kullanılacak kalibrasyon eğrisinin çizilmesinde çok sayıda standart çözeltiye gereksinim vardır.



<http://mis.sc.chula.ac.th/Chem112.ppt#1>

Şekil-21: Çeşitli yöntemlerle skala genişletilmesi; (a) yüksek absorbands, (b) düşük (zayıf) absorbands, (c) çok yüksek (maksimum) hassasiyet yöntemleri

Çok Yüksek Hassasiyet Yöntemi

Çok yüksek hassasiyet yönteminde yukarıdaki iki teknik bir arada kullanılır. Şekil-21c'de görüldüğü gibi yine skala genişletilmesi yapılır; burada iki referans çözelti vardır. Bunlardan biri %100 ayarının yapılmasında kullanılır ve geçirgenliği örnekten daha fazla olan referans 1, diğeri %0 geçirgenlik ayarında kullanılan ve geçirgenliği örneğin geçirgenliğinden daha az olan referans 2'dir. Burada da relatif absorpsiyon ile konsantrasyon arasındaki ilişki doğrusal değildir.

Diferensiyal Yöntemlerle Hassasiyetin Artırılması

Şekil-20'de üç diferensiyal absorpsiyon yöntemindeki eğriler, basit yöntemdeki hata eğrisi ile kıyaslanmıştır. A eğrisinden görüldüğü gibi, absorpsiyon yüksek (veya geçirgenliği düşük) örneklere yüksek-absorbans yöntemi uygulanırsa hassasiyet artar. A eğrisi geçirgenliği %10 olan referans standart kullanılarak çizilmiştir (Şekil-20a). Referansın % geçirgenliği artıkça ve %100'e ulaştığında hata eğrisi basit yöntemdeki (O eğrisi) şekli alır. Düşük-absorbans (B eğrisi) ve çok yüksek hassasiyet (C eğrisi) yöntemlerinin eğrileri Şekil-21(b) ve 21(c)'deki verilere göre çizilmiştir.

Hassasiyet Yöntemlerinde Cihaz Koşulları

Düşük-absorbans yönteminde, fotoelektrik dedektöre ışın çarpmadığı zaman üretilenden daha büyük akımları yok edecek bir ölü-akım dengeleme devresi gerekir. Yüksek-absorbans yöntemi için ise, cihazın, ışık yoluna bir absorpsiyon çözeltisi konulduğunda göstergenin %100 geçirgenliğe ayarlanabilmesini sağlayacak yeterli bir rezerv kapasiteye sahip olması gerekir. Tüm skala okuması, ya ışın şiddeti artırılarak (slit açıklığı büyütülür) veya fotoelektrik akımın amplifikasyonu artırılarak sağlanır. Çok yüksek hassasiyet yönteminin uygulandığı cihazlarda bu iki özelliğinde bulunması gerekir.

Bir spektrofotometrenin ışın yolu üzerine absorblayıcı bir çözelti konulduğunda %100 skala ayarı yapabilme kapasitesi monokromatörün kalitesine ve elektronik devrenin kararlılığına bağlıdır. Ayrıca, dalga boyu değiştikçe ışının şiddeti ve dedektörün hassasiyeti de değiştiğinden bu kapasite dalga boyuna da bağlıdır. Işın şiddetinin ve dedektör hassasiyetinin düşük olduğu bölgelerde %100 ayarı için slit açıklığının artırılması gerekir; bu gibi durumlarda monokromatörün kalitesi yüksek olmalıdır, aksi halde ışın saçılması olur ve bu nedenle de hatalar oluşur.

Başka bir seçenek akım yükseltme derecesinin çok artırılmasıdır; bu durumda da iyi bir elektronik kararlılık gerekir, yoksa önemli fotometrik hatalar ortaya çıkar.

FOTOMETRİK TİTRASYONLAR

Fotometrik ve spektrofotometrik ölçmeler bir titrasyonun son noktasını saptamakta kullanılabilir. Doğrudan yapılan bir fotometrik titrasyonda son nokta, reaksiyona giren maddenin(titrant) veya reaksiyondan elde edilen maddenin (ürün) veya her ikisinin birden konsantrasyonundaki değişikliğin sonucudur; bu maddelerden en az birinin belirli bir dalga boyunda ışın absorblaması gerekir. Doğrudan titrasyonda titrant hacmine göre indikatörün absorbansı izlenir.

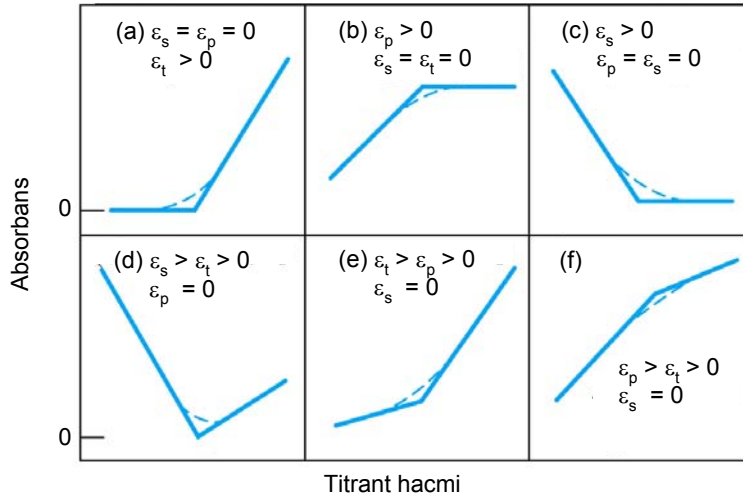
Titrasyon Eğrileri

Fotometrik bir titrasyon eğrisi, düzeltilmiş absorbans değerlerinin titrant hacmine göre çizildiği bir grafikdir. Özel koşullarda, elde edilen grafikte eğimleri birbirinden farklı iki düz-hat bulunur, biri tirasyonun başlangıcında, diğeri ise eşdeğerlik noktasından sonraki kısmında bulunur; son nokta, iki doğrunun ekstrapolasyonu ile elde edilen kesişme noktasıdır. Şekil-22a, ışın absorblamayan bir maddenin renkli bir titrant ile titrasyonunu gösterir. Madde ile titrantın reaksiyonu renksiz bir ürün verir ve titrasyon eğrisinin birinci bölümü yatay bir doğru şeklindedir. Eşdeğerlik noktasından sonra absorbans hızla artar (titrantın rengi nedeniyle geçirgenlik azalır). Şekil-22b ise örnek ve titrantın renksiz, reaksiyonda oluşan ürünün renkli olduğu bir titrasyon eğrisidir. Titrasyonun başlangıcından itibaren renkli ürün oluşumu nedeniyle absorbans artar, eşdeğerlik noktasından sonra absorbans titrant miktarından etkilenmez ve eğrinin ikinci yarısı yatay bir doğru şeklini alır. Örnek, titrant ve ürünün özelliklerine bağlı olarak Şekil-22'deki diğer eğriler (c, e, f) elde edilebilir.

İyi bir fotometrik eşdeğerlik noktası elde edebilmek için absorblayıcı sistemin (veya sistemlerin) Beer kanununa uyması gerekir; aksi halde, titrasyon eğrisindeki iki doğrusal bölge düzgünlüğünü kaybeder ve son nokta için gerekli olan ekstrapolasyon yapılamaz.

Diğer bir konu, absorbans değerlerinin hacim değişikliğine göre düzeltilmesidir. Bunun için gözlenen absorbans değerleri ile, V = örneğin titrasyondan önceki hacmini, v = ilave edilen titrant hacmini gösterdiğine göre, $A_{\text{düzeltilmiş}}$ hesaplanır.

$$A_{\text{düzeltilmiş}} = A_{\text{gözlenen}} \frac{V + v}{V}$$



<http://bionmr.c1.unl.edu/421-821/Lectures/421-821-chapter-13-14.ppt>

Şekil-22: Tipik fotometrik titrasyon eğrileri; titre edilen örneğin, ürünün ve titrantın molar absorbtiviteyi sırasıyla, ϵ_s , ϵ_p , ϵ_t ile gösterilmiştir

Cihaz

Fotometrik titrasyonlar, ışık yolu üzerine bir titrasyon kabı yerleştirilebilecek şekilde dizayn edilmiş herhangi bir fotometre veya spektrofotometrede yapılabilir. Cihazda sıfır ayarı yapıldıktan sonra ışığın analit çözeltiden geçmesi sağlanır, uygun bir absorbans değeri okunacak şekilde kaynak şiddeti veya dedektör hassasiyeti değiştirilir. Fotometrik titrasyonda başlangıçta örneğin gerçek absorbansını ölçmeye gerek yoktur, çünkü relatif değerlerle son-nokta tayininde daha başarılı olunur. Cihazın ayarları değiştirilmeden titrasyon yapılır ve veriler toplanır.

Bir fotometrik titrasyonun yapıldığı süre boyunca ışın kaynağının gücü ve dedektör algılaması sabit kalmalıdır. Titrasyonda silindirik şeklinde bir kap kullanılır. Deney sırasında kabın yeri değişmemelidir; çünkü, kabın yeri ışın yolunun uzunluğunu saptar. Filtreli fotometreler ve spektrofotometreler bu amaçla kullanılabilir. Özellikle spektrofotometreler daha dar bandlar verdiğinden fotometrelere tercih edilirler.

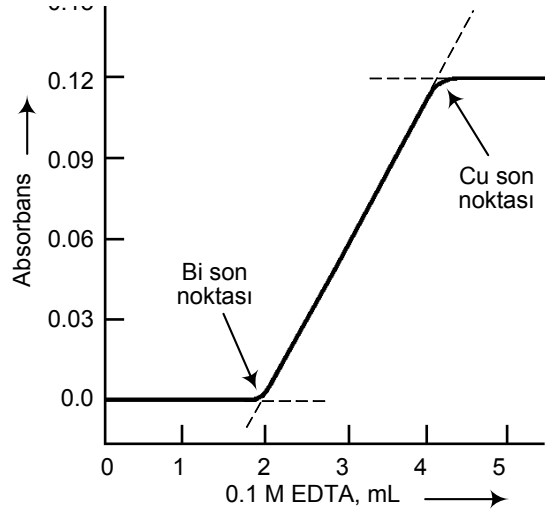
Fotometrik Titrasyonun Uygulaması

Fotometrik titrasyonlar çoğu zaman doğrudan fotometrik analizlere göre daha doğru sonuçlar verir; çünkü son nokta bir kaç değerden elde edilir. Ayrıca örnekte diğer absorblayıcı maddelerin bulunması, titrasyonda sadece absorbsiyon değeri ölçüldüğünden, tayini engellemez.

Fotometrik eşdeğerlik noktası yöntemi, verilerin eşdeğerlik-noktası bölgesinde alındığı diğer son nokta tayin metotlarından çok daha avantajlıdır. Fotometrik titrasyon reaksiyonlarında, örneğin potansiyometrik (veya indikatör) dönüm noktası titrasyonlarında olduğu gibi, denge sabitlerine gereksinim yoktur. Bu nedenle, çok seyreltik çözeltilerin bile analizi yapılabilir.

Fotometrik son nokta her tip reaksiyona uygulanabilir. Yükseltgenme-indirgenme titrasyonlarında kullanılan titrant maddelerinin çoğunun karakteristik absorbsiyon spektrumları vardır, bu nedenle fotometrik olarak saptanabilen son noktalar verirler. Fotometrik nötralizasyon titrasyonlarında asit-baz indikatörler kullanılır. Fotometrik son nokta, EDTA ve diğer kompleks yapıcı maddelerin titrasyonunda da çok avantajlıdır. Şekil-23'de bizmut(3) ve bakır(2) karışımının fotometrik titrasyon eğrisi verilmiştir. 745 nm'de katyonların da titrantın da absorbsiyonu yoktur. Titrasyonun birinci bölümünde titrant (0.1N EDTA çözeltisi) ile çok kararlı bizmut kompleksi oluşur; bu kompleks de 765 nm'de absorbsiyon yapmaz. Bu nedenle bizmut(3) iyonlarının tamamı kompleks haline dönüşüncüye kadar sistemde herhangi bir absorbsiyon gözlenmez. Bakır(2) iyonlarının EDTA ile titrasyonu başladığında reaksiyon sonucu oluşan bakır kompleksi nedeniyle absorbsiyon değeri artmaya başlar (Cu EDTA kompleksi 765 nm'deki ışını absorblar). Absorbsiyon, çözeltideki bakır iyonları bitinceye kadar yani eşdeğerlik noktasına ulaşıncaya kadar artar, sonraki titrant ilaveleri absorbsiyon değerini değiştirmez. Deneyde iki güzel son nokta elde edilir.

Fotometrik son nokta çökeltme titrasyonlarına da uygulanabilir; burada, ortamda asılı katı tanecikler olarak bulunan ürün gelen-ışının saçılmasına neden olarak gücünü azaltır; titrasyona bulanıklığın sabit olmasına kadar devam edilir.



Şekil-23: $2 \times 10^{-3} N Bi^{+3}$ ve Cu^{+2} içeren 100 ml çözeltinin fotometrik titrasyon eğrisi; dalga boyu 745 nm

OTOMATİK FOTOMETRİK VE SPEKTROFOTOMETRİK ANALİZLER

Son yirmi yılda cihazlarda yapılan en önemli gelişme analiz sistemlerinin son derece otomatik duruma getirilmiş olmasıdır. Bu tip cihazlara en fazla gereksinim duyulan yerler, çok sayıda örneğin kısa sürede analizinin yapılması gereken klinik laboratuvarlarıdır. Bu tip cihazlar artık endüstriyel ürünlerin ve su, hava, ve zirai maddelerin rutin analizlerinde de kullanılmaktadır.

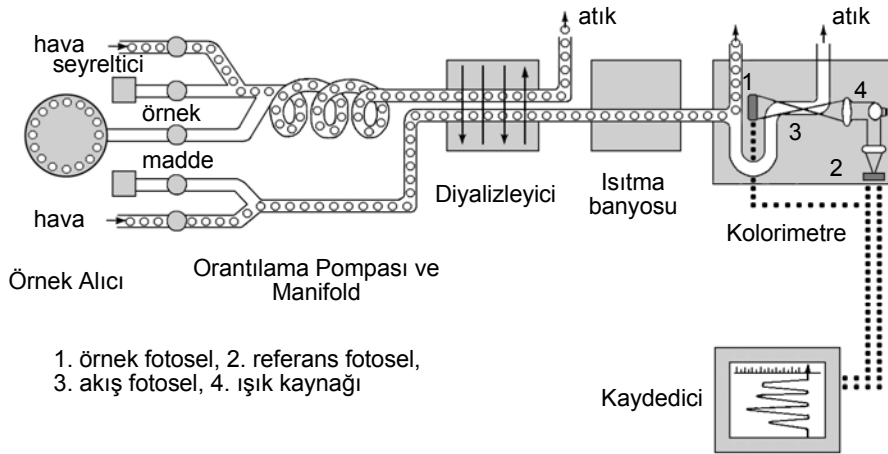
Klinik analizlerin çoğu ultraviyole veya görünür bölgede fotometrik veya spektrofotometrik ölçmelere dayanır. Otomatik sistemlerde atomik spektroskopi de kullanılabilir ve analit konsantrasyonunu ölçmek için elektroanalitik yöntemler uygulanır. Aşağıda iki otomatik sistem ve kısa açıklamalar verilmiştir.

Sürekli - Akış Analizörü

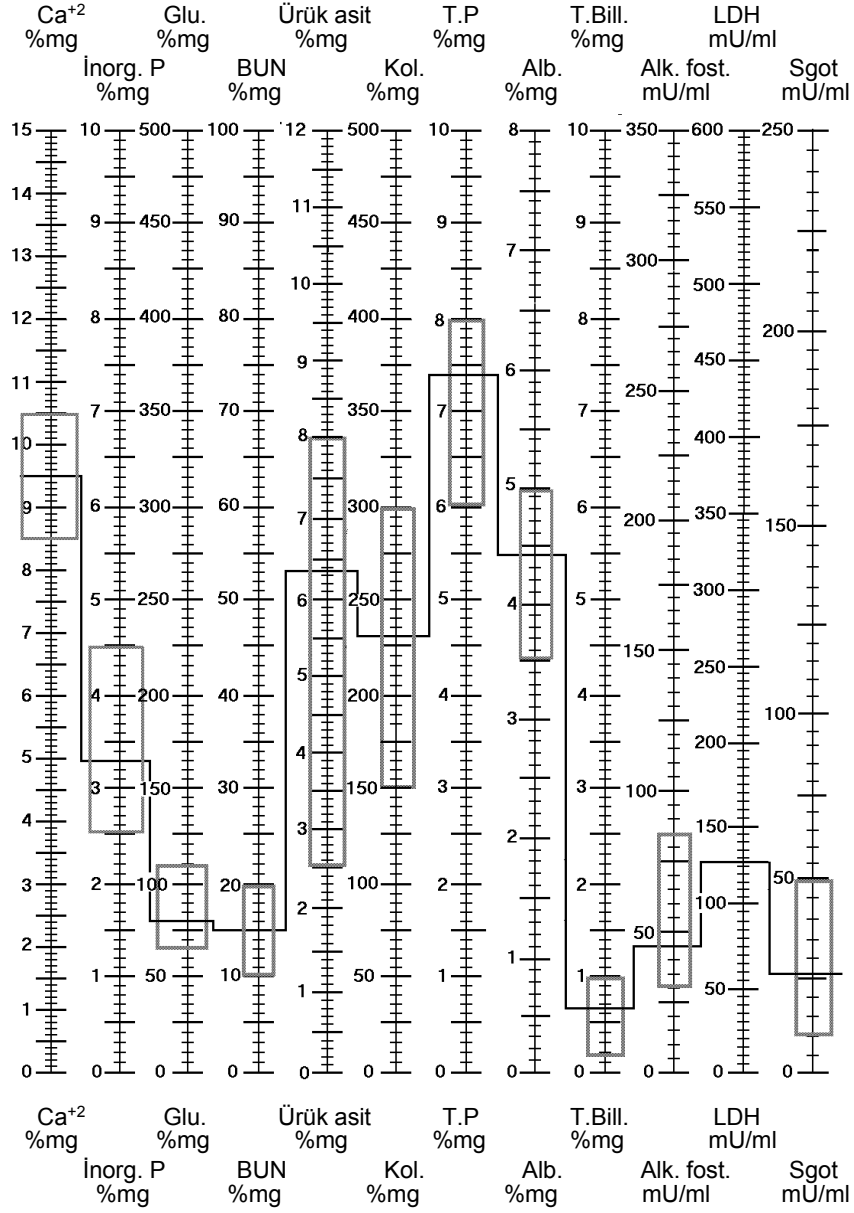
Sürekli bir analizörde tüp ve odacıklardan oluşan bir sistemden çeşitli örnekler birbiri arkasında sıra ile geçer. Bu durumda birbirini kirletmemeleri için örneklerin ayrılması ve her örnek geçişinden sonra sistemin temizlenmesi gerekir. Technicon Auto Analizörde (ilk ticari cihaz) örnek, titrant, ve seyrelticiin plastik tüpteki ilerleyişi peristaltik bir pompa ile yapılır. Peş peşe gelen örneklerin birbirinden ayrılması için de tüp içine hava kabarcıkları gönderilir.

Şekil-24'de kandaki maddelerden birinin analizinde kullanılan tek-kanallı bir otoanalizörün şematik diagramı verilmiştir. Örnekler otomatik olarak ve sıra ile alınır, seyreltici ve hava kabarcığı ile karıştırılır. Hava kabarcığı karışmayı kolaylaştırır ve her bir örneğin bir diğerinden ayrılmasına yardım eder. Seyreltilen örnek dializöre girer. Burada, küçük analit iyonlarının veya moleküllerinin titrant akımına geçebilmesini sağlayan membranlar vardır. Membranlardan geçemeyen kandaki büyük-protein molekülleri dializörden dışarı atılır.

Rutin kan analizi için kullanılan bir sistemde örneği seyrelten ve bir kaç kısma ayıran bir düzenek bulunur. Ayrılan her bir parça seyreltilmiş örnek, Şekil-24'dekine benzer (ayrı) kanallardan geçer. Böyle tipik bir sistemin çıkış verileri Şekil-25'de görüldüğü gibidir.



Şekil-24: Tek kanallı Technicon Autoanalizör sistemi



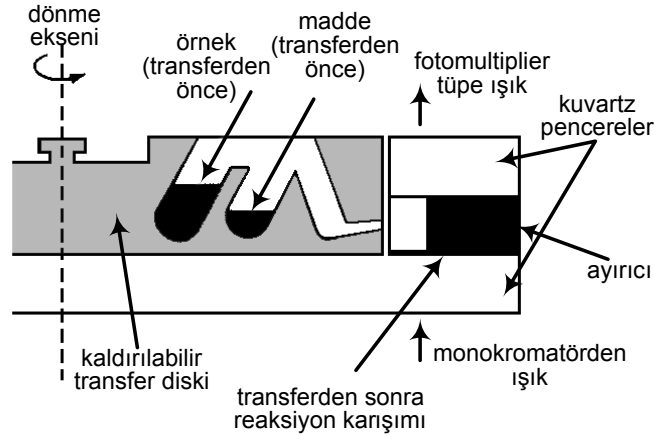
Şekil-25: Çok kanallı Technicon Autoanalizör'ün çıkışı

Santifüjlü Hızlı Analizör

Bu tip analizörlerde örnekteki maddelerden birinin analizi yapılır. Sisteme aynı anda 16 örnek konulabilir. Örnek ve kimyasal madde bir santrifüjle karıştırılır ve bir hücreye aktarılır.

Şekil-26'da cihazın çalışma sistemi görülmektedir. Şekil bir santrifüjün dairesel plastik rotorunun kesitidir. Rotorda 17 çift kompartıman vardır, bunlar dönme eksenini etrafına radyal olarak yerleştirilmişlerdir. Örnekler ve kimyasal maddeler 16 kompartımana otomatik olarak alınır; 17. kompartımana solvent (örneğin çözüldüğü) ve kimyasal madde konur, bu kompartıman şahittir. Dönme hızı 350 rpm olacak şekilde rotor döndürülür, 17. kompartımandaki her karışım iyice karışır ve reaksiyona girerler ve rotorun dış kenarında bulunan hücrelere taşınırlar. Hücrelerde yatay kuvarz camlar vardır. Karıştırma karışımlara hava çekilerek çabuklaştırılır. Bir filtrelili fotometre veya spektrofotometreden gelen ışın hücreden geçirilir ve fotomultiplier bir tüpe gönderilir.

Santrifüjlü hızlı analizörün en önemli uygulama yeri enzim analizleridir. Enzim analizleri, absorpsiyon yapabilen bir maddenin harcanması (veya oluşması) reaksiyonunda analitin (enzim) katalitik etkisi esasına dayanır. Burada, absorpsiyon yapabilen bir maddenin harcanması (veya oluşması) hızının enzim konsantrasyonuna göre değişimini gösteren bir kalibrasyon eğrisinden yararlanılır. Santrifüjlü hızlı analizör ile, aynı koşullar altında, aynı anda 16 ayrı reaksiyonun hızı saptanabilir.



Şekil-26: Bir santrifüjlü hızlı analizörün rotoru

FOTOAKUSTİK SPEKTROSKOPİ

Fotoakustik veya optoakustik spektroskopi, 1970'li yılların başında geliştirilmiş olan ve katı veya yarı katı maddelerin ultraviyole veya görünür absorpsiyon spektrumlarını elde etmek için uygulanan bir yöntemdir.

Fotaokustik Etki

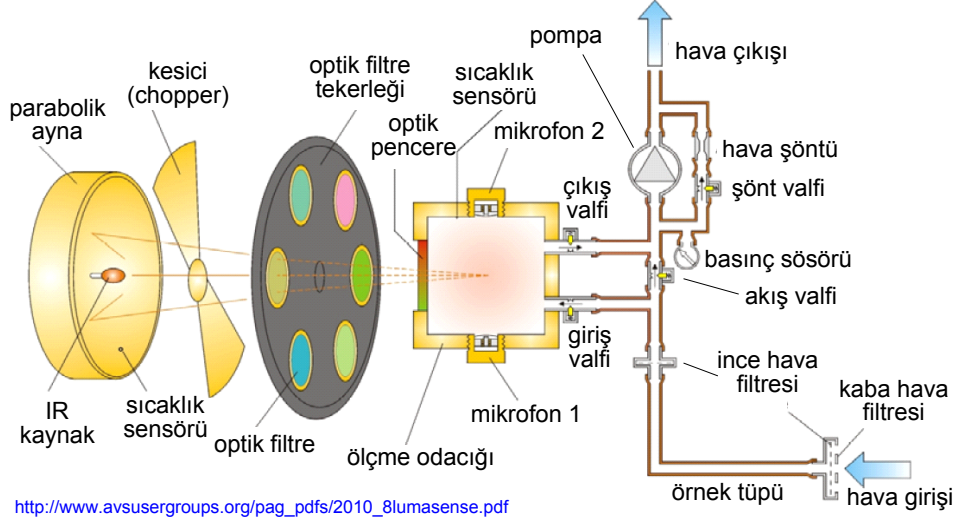
Fotoakustik spektroskopi absorpsiyon etkisine dayanan bir analiz yöntemidir. Bu etki ilk olarak Alexander Graham Bell ve arkadaşları (1880) tarafından bulunmuştur.

Kapalı bir hücredeki gazı ışın gönderilirse gaz ışını absorblar. Bunun için bir kaynaktan çıkan ışıktan belirli bir dalga boyundaki kısım monokromatör ile ayrılarak önce bir choppere (kesici) gönderilir. Chopper bu ışını kesik kesik sisteme verir. Kapalı hücredeki gaz molekülleri ışını absorblayarak temel enerji halinden uyarılmış hale geçerler.

Uyarılmış tanecikler diğer taneciklerle sürekli olarak çarpışmakta olduğundan uyarılma enerjilerini kısmen veya tamamen kaybederlerken ortamdaki diğer taneciklerin kinetik enerjileri artar (ışınmasız zayıflama). Kinetik enerji artışı taneciklerin hücre cidarına yaptığı basıncı artırır; hücreye kesik kesik gelen ışının kesilme hızına bağlı olarak hücre iç cidarında bir basınç dalgalanması, yani akustik (ses) frekanslar oluşur. Bu frekanslar hassas bir mikrofon ile kaydedilir. Şekil-27'de bir fotoakustik gaz monitörünün şeması görülmektedir.

Çalışma sistemi:

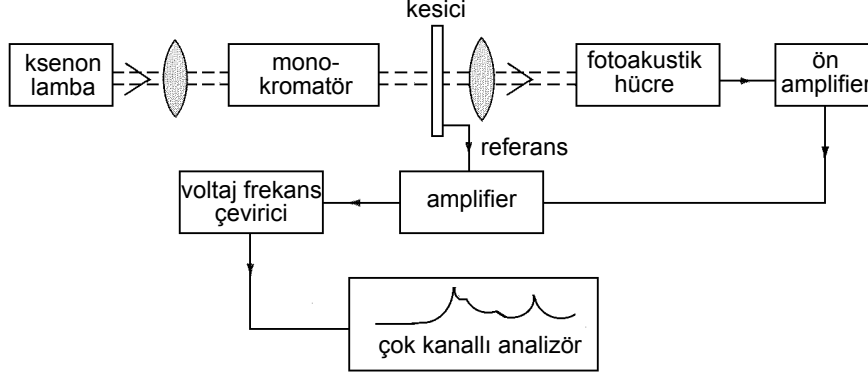
- Örnek (hava olabilir) ölçme odacığına konulur ve odacık valflerle sıkıca kapatılır.
- IR kaynaktan gelen ışın bir kesici ve filtreden geçerek odacığa girer; örneğin ışını absorblamasıyla ısı açığa çıkar ve basınç değişiklikleri meydana gelir.
- Basınç değişiklikleri, kesici frekansını vasıtasıyla bir basınç dalgası yaratır; bu da mikrofonlar tarafından algılanır.
- Mikrofon sinyali gaz konsantrasyonu ile orantılıdır; gerekli işlemlerden geçer ve sonuç hesaplanır.



Şekil-27: TechnologiesInnova PAS gaz monitörü

Katı maddelerin fotoakustik çalışmalarında madde, içinde hava veya başka bir inert gaz (ışın absorblamayan) ile hassas bir mikrofon bulunan kapalı bir hücre içine konur. Monokromatörden geçen bir dalga boyundaki ışın chopperden geçildikten sonra katı madde üzerine gönderilir; ışın katı tarafından absorblanır ve sonra fotokustik etki gözlenir; oluşan sesin kuvveti, absorblanan ışının miktarı ile doğru orantılıdır. Işının örnek (katı veya yarı katı) tarafından yansıtılan veya saçılan bölümü mikrofonu herhangi bir sinyal verecek etki yapmaz, yani işlemi etkilemez. Bu husus yöntemin en önemli özelliğidir.

Katılarda oluşan fotoakustik etkinin nedeni de gazlardakine benzer. Işın absorblayan katı uyarılır ve uyarılma enerjisini kısa bir süre sonunda ışısız relaksasyon ile kaybeder; böylece katıdan, etrafını saran gaz moleküllerine sürekli olarak ısı transferi olur sonuçta kap içindeki basınç dalgalanmaları mikrofon ile saptanır.



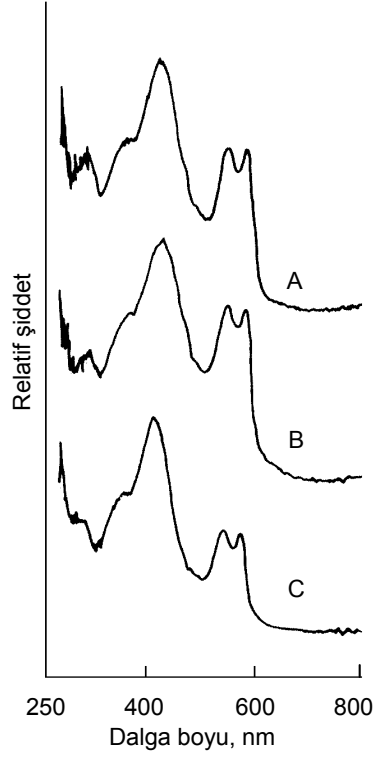
Şekil-28: Tek ışınlı fotoakustik spektrofotometre ve digital veri sisteminin şematik diyagramı

Şekil-28'de tek-ışınlı bir fotoakustik spektrofotometrenin blok diyagramı görülmektedir. Cihazda yapılan bir uygulamanın fotoakustik spektrumu da Şekil-29'de verilmiştir. Burada kan (tamamı), plazmadan ayrılmış kan hücrelerinin, ve hücrelerden ekstrakt edilmiş hemoglobin ile hazırlanmış örneklerin fotoakustik spektrumu görülmektedir (örnekler, maddenin deneyin yapıldığı dalga boyunda absorpsiyonu olmayan bir katı üzerine sürülmesiyle hazırlanır). Normal spektroskopik yöntemlerle çok seyreltik kan örnekleriyle bile olumlu sonuçlar alınamaz. Çünkü kanda bulunan protein ve yağ moleküllerinin ışını saçma (scatterin) özellikleri çok kuvvetlidir. Fotoakustik etkide ise ışın saçılması olayı yöntemi bozmaz; bu nedenle kan analizleri, büyük molekülleri ayırmaya gerek olmadan yapılabilir.

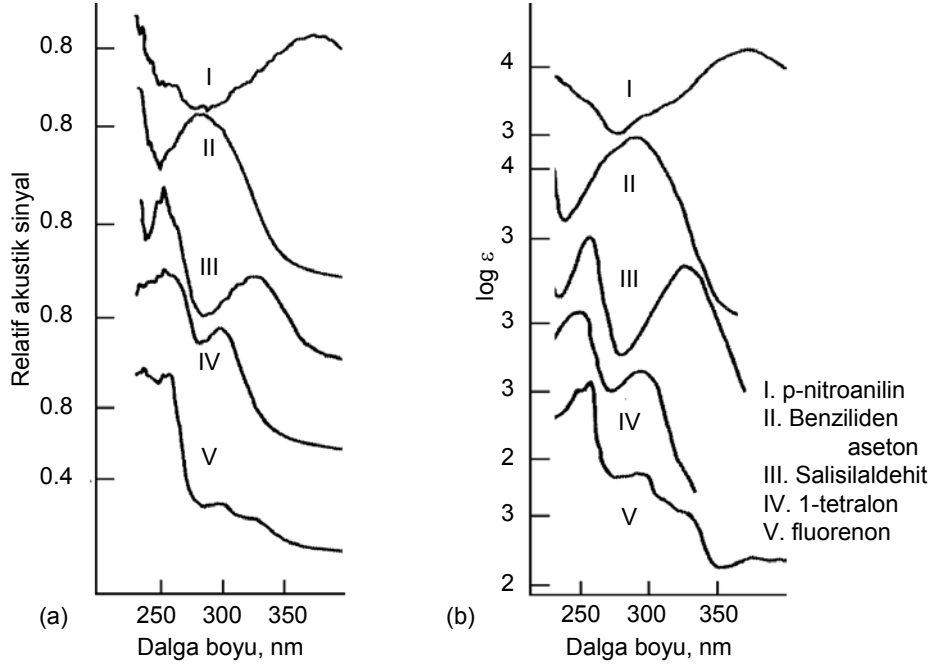
Şekil-30'da fotoakustik spektroskopinin diğer bir uygulaması görülmektedir. Sol taraftaki beş spektra, ince tabaka kromatografik levhalarda ayrılmış beş organik maddeye aittir. Bu spektralar ince-tabaka levhalar üzerinde alınmıştır. Sağ taraftaki spektralar, kıyaslama yapılabilmesi için, çözeltilere aittir. İki spektranın benzerliği bileşiğin tanımlanmasını sağlar.

Fotoakustik spektroskopisinin diğer uygulamaları arasında minerallerin, yarı iletkenleri, doğal ürünler (deniz yosunları ve hayvan dokuları gibi), yüzey kaplamaları, ve katalitik yüzeyler sayılabilir.

Katı maddelerin kalitatif tanımlanması için orta-infrared bölgedeki çalışmalarda da fotoakustik ölçmeler kullanılmaktadır. Özellikle, S/N oranı yüksek olan Fourier transform teknik ile bu yöntemde başarılı olunmaktadır. Fotoakustik hücreler Fourier transform cihazlarının aksesuarları olarak satılmaktadır.



Şekil-29: A. Katı üzerine sürülmüş kan, B. kırmızı kan hücreleri ve C. hemoglobinin fotoakustik spektrumları



Şekil-30: (a) Bir ince tabaka kromatogram (TLC) üzerindeki noktaların, ve (b) aynı bileşiklerin çözeltilerinin, spektrumları

Yararlanılan Kaynaklar

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