

ENSTRUMENTAL ANALİZ ALETLİ ANALİZ YÖNTEMLERİ

1

- Bir numunenin içindeki maddelerin ve miktarlarının bulunması işlemine **Analiz** denir. Bir örnekte hangi bileşen ve/veya bileşenlerin (atom, iyon, molekül) olduğunun tayinine **nitel (kalitatif) analiz** denir. Bileşenin miktar veya derişiminin tayinine de **nicel (kantitatif) analiz** denir.

Kimyasal Analiz

- 1.Numune alma,
- 2.Ayırma,
- 3.Yöntem Seçimi,
- 4.Ölçme,
- 5.Değerlendirme basamaklarından oluşur.

Analiz için kullanılan yöntemler genel olarak iki grupta toplanır.

- Klasik Yöntemler
- Enstrumantal Yöntemler.

Klasik (yaş) yöntemler

- Gravimetrik , volumetrik analiz yöntemlerini kapsar.

Kimyasal maddeler, terazi , kalibre edilmiş cam malzeme, ısıtıcı gibi basit laboratuvar malzemelerinin kullanıldığı ve genelde analitin (tayin edilecek madde) daha fazla bulunduğu numunelerin analizinin yapıldığı yöntemlerdir.

Aletli (Enstrumental) Analiz Yöntemleri

- Spektroskopik Yöntemler
- Kromatografik Yöntemler
- Termokimyasal yöntemler
- Elektrokimyasal yöntemleri içerir.

Genel laboratuvar cihazlarının yanı sıra, çeşitli analitik cihazların kullanıldığı yöntemlerdir. Analitik cihazlar, maddenin, iletkenlik, elektrot potansiyeli, ışın absorpsiyonu veya emisyonu, kütle/yük oranı, floresans gibi fiziksel ve kimyasal özelliklerini ölçer.

Numuneyi analiz etmek amacıyla bazı bileşenleri ayırmak için kullanılan kromatografik, elektrolitik, elektroforetik yöntemler de aletli analiz yöntemlerindedir.

Hangi yöntem olursa olsun kullanım için öncelikle aşağıdaki noktalar dikkate alınmalıdır.

- a) Analizi yapılacak numunenin miktarı
- b) Aranılan maddenin numune içindeki miktarı
- c) Analiz yapacak lab.daki eleman ve cihaz durumu
- d) İstenilen duyarlılık ve kesinlik derecesi
- e) Analiz için ne kadar sürenin ayrılabilceği
- f) Ekonomik faktörler

Klasik yöntemler

- a) Uygulamaları kolaydır
- b) Sabit harcamaları azdır
- c) Genellikle girişim azdır
- d) Duyarlık sınırları düşüktür
- e) Seçici değildir
- f) Numune miktarı yüksek olmalıdır
- g) Uygulama zaman alıcıdır

Enstrumental Yöntemler

- a) Genel olarak duyarlık yüksektir
- b) Seçici olabilir
- c) Az miktarda örnek analiz için yeterlidir
- d) Değerlendirme çabuk ve kolaydır
- e) Otomasyon mümkündür
- f) Pahalıdır
- g) Servis ve bakım pahalıdır
- h) Kullanımları zordur

Enstrumental analiz metotlarının klasik analiz metotlarına göre avantajları şunlardır:

- Enstrumental analiz metotları, çok düşük konsantrasyonlarda bile iyi sonuç vermektedir. Klasik analiz metotlarında bu kadar düşük konsantrasyonlar tayin edilemezler.
- Enstrumental analiz metotları, klasik metotlardan daha hızlıdır ve kısa sürede sonuçlar alınabilir.
- Enstrumental amaçla kullanılan bir cihaza mikrobilgisayar bağlanarak, analiz sonuçları otomatik olarak kaydedilebilir. Kısacası enstrumental analiz metotları otomasyona uygundur.

Enstrumental analiz metotlarının klasik analiz metotlarına göre dezavantajları şunlardır:

- Enstrumental analizde kullanılan cihazlar laboratuvarda özel bir yer isteyen, pahalı ve bakıma ihtiyaç gösteren cihazlardır.
- Enstrumental analizde elde edilen sinyallerin değerlendirilmesi iyi yetişmiş insan gücüne ihtiyaç gösterirken klasik analizde ise buna gerek duyulmaz.
- Enstrumental metotların öğretilmesi ve öğrenilmesi güç iken klasik analizde kolaydır.

- Enstrumental analizler, konsantrasyonları yüksek olan maddelerde uygulanamazken klasik metotlar çok kolay uygulanır.
- Enstrumental metotlarda cihazlar kullanılmadan önce kalibre edilmek için standart maddelere ihtiyaç duyulurken klasik analizlerde böyle bir işleme gerek yoktur.
- Enstrumental metotlar arada bir yapılacak analizler için uygun değildir. Zira bu analizlerde kalibrasyon eğrisi oluşturmak hem pahalı hem de çok zaman alıcı bir işlemdir. Klasik analizde kalibrasyon eğrisine ihtiyaç yoktur.

Enstrumantal Yöntemler

Analitik enstruman, insan tarafından anlaşılamayan veya detekte edilemeyen bir analitik sinyali yine insan için anlaşılabilir hale getiren araç olarak tanımlanır

Işık emisyonu, Işık kırılması,elektriksel akım vb. analitik sinyale örnektir.

Bir enstrumanla çalışmaya başlamadan önce bazı ön çalışmalar yapılmalıdır

1. Analiz nicel mi, nitel mi yoksa beraber mi olacak
2. Numune ne kadar
3. Aranılan madde nedir
4. Sonuç hangi duyarlılıkta isteniyor
5. Girişimi muhtemel maddeler neler
6. Hangi ön ayırma işlemleri uygulanacak(kromatografik,ekstraksiyon kristalizasyon,süzme,dondurma,kurutma gibi)
- 7.Literatür taraması, yöntem belirlenmesi ve araç seçimi

Enstrumantal analizler genelde 4 grupta incelenir.

- a) Spektroskopik
- b) Elektrokimyasal
- c) Kromatografik
- d) Termokimyasal

1-Spektroskopi: Işın-madde etkileşmesini inceleyen bilim dalına spektroskopi denir

UV-Görünür Bölge, Moleküler Absorpsiyon Spektroskopisi

IR Spektroskopisi

Raman Spektroskopisi

NMR Spektroskopisi

X-Işınları Spektroskopisi

Radyokimya

Kütle Spektroskopisi

Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomik Emisyon Spektroskopisi

2- Elektrokimyasal Metodlar

Elektrokimyasal Hücre, incelenen maddeyi içeren bir çözelti ya da erimiş tuz, maddenin kimyasal dönüşüme uğradığı elektrotlar ve bu elektrotları birbirine bağlayan bir dış devreden oluşur.

Voltametri

Polarografi

Amperometri

Kondüktometri (İletkenlik)

Potansiyometri

3- Kromatografik Metodlar

Sıvı Kromatografisi

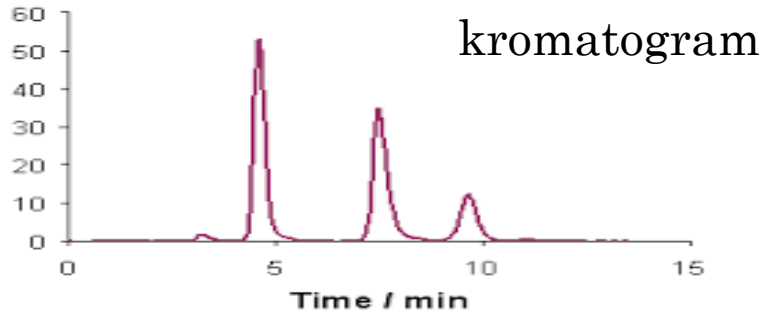
HPLC Kromatografisi

Katı-Sıvı Kromatografisi

İyon Kromatografisi

Gaz Kromatografisi

Kromatografi: Bir karışımdaki bileşenlerin birbirinden ayrılmasını gerçekleştiren yöntemlerin genel adıdır. Bir sabit birde hareketli faz vardır. Sabit fazda ilerleyen bileşenlerin derişimlerinin uygun bir yöntemle ölçülerek zaman veya hareketli fazın hacmine karşı çizilen grafiğine **kromatogram** denir.



4-Termal Analiz Yöntemleri

Örneğe ait bir fiziksel özelliğin sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü veya bir tepkimede absorplanan veya açığa çıkan ısının izlendiği yöntemlere **Termal Analiz Yöntemleri** denir.

Termogravimetri: Sıcaklık artışına karşı örneğin kütlesindeki değişim ölçülür. Elde edilen sıcaklık-kütle eğrilerine **Termogram** denir.

Erime gibi kütle değişimine neden olmayan faz değişimleri TG ile incelenmez.

ALETLİ ANALİZ YÖNTEMLERİ

Bazı analitik sinyaller ve uygulandıkları yöntemler şekilde verilmiştir.

Ölçülen Özellik	Aletli Analiz Yöntemi
Işın Absorpsiyonu	Spektrofotometri (X-ışını, UV, GB, IR), NMR, ESR, Fotoakustik spektroskopisi
Işın Emisyonu	Emisyon spektroskopisi (X-ışınları, UV, GB, elektron, Auger,) Floresans, Fosforesans ve Lüminesans Spektroskopisi
Işın Saçılması	Türbidimetri, Nefelometri, Raman Spektroskopisi
Işın Kırılması	Refraktometri, interferometri
Işın Difraksiyonu	X-ışınları ve elektron difraksiyon yöntemleri
Işın rotasyonu	Polarimetri, dairesel dikroizm
Elektrik potansiyeli	Potansiyometri, Kronopotansiyometri
Elektrik yükü	Kulometri
Elektrik akımı	Amperometri, Polarografi, voltametri
Elektriksel direnç	Kondüktometri (İletkenlik Ölçümü)
Kütle	Gravimetri
Kütle/yük	Kütle spektroskopisi
Tepkime Hızı	Kinetik yöntemler
Termal Özellikler	Termal gravimetri, DTA, Termal İletkenlik
Radyoaktivite	Nötron Aktivasyon Analiz, İzotop seyreltme yöntemleri

Analiz Cihazları (Enstrümanlar)

Bir cihazın temel kısımları çoğunlukla dördü aşmaz.

Şekilde şematik olarak görüldüğü gibi bu kısımlar:

- Sinyal jeneratörleri
- Dedektörler (giriş dedektörleri)
- Sinyal prosesörleri (devreler ve elektrik aletleri)
- Veri okuma aletleri

Tüm enstrumantal yöntemlerde kullanılan cihazlar aşağıdaki ana bölümlerden oluşur.

- a) Sinyal Kaynağı(Sinyal jeneratörü):** Analitik sinyal oluşmasını sağlayan örnekte kimyasal ve fiziksel değişme olmasına neden olan bir ışık, elektrik akımı kaynağı veya örneğin ta kendisidir. Sinyal ya madde üzerine gönderilir yada maddeye uygulanır. Madde bu etkiye cevap verir ve bu da sinyaldir.
- b) Sinyal Detektörü:** Sinyali algılayan ve dönüştüren cihaz
- c) Sinyal Uygulayıcı(devreler ve elektrik aletleri):**Sinyal küçük olduğu için onu hissedilir şekle çeviren cihaz
- d) Okuma cihazı:** sinyalin görünür hale getiren cihaz(yazıcı)

Enstrumantal analizlerde ön hazırlıklar

Yapılacak enstrumantal analiz metoduna göre öncelikle ön hazırlıkların yapılması gerekir.

Bu analiz yöntemlerinde analiz edilecek örnek çözelti haline getirilmelidir. Bunun için örneklerin analiz yöntemlerinde belirtildiği şekilde çözeltiler ve kimyasal maddeler hazırlanmalıdır.

,

Çözme

Damıtma

Ekstraksiyon

Evaporasyon

Daha sonra bu örneğe ölçüm yapmadan önce ilave edilecek kimyasal maddeler analiz yönteminde belirtilen şekilde hazırlanmalıdır.

Analiz öncesi sistemin ışığı absorbe etme, ışığı çevirme veya ışığı kırma dereceleri ölçümü için cihazlar kullanım talimatlarında belirtilen şekillerde çalıştırılarak kullanıma hazır hale getirilmeleri gerekmektedir. Bunun için her cihaz için ayrı işlemler yapılmaktadır. Bu konular ilgili faaliyetlerde ayrıntılı olarak anlatılacaktır.

Ölçüm değerlerinin aynı koşullarda ve içerisine belli miktarda madde bulunan bir standart seri ile karşılaştırılması için analiz öncesi standart seri çözeltilerinin hazırlanması gerekmektedir. Bu hazırlıklar içinde yine analiz metotlarında belirtilen standart seri çözeltileri belirlenip, çözelti hazırlama esasları uygulanarak hazırlanır.

Bu standart seri çözeltilerden bazıları analiz kitleri olarak hazır halde de bulunmaktadır. Bu kitler bulunuyorsa standart seri çözeltilerinin hazırlanmasına gerek yoktur.

Enstrumantal gıda analiz yöntemlerinde analiz öncesi hazırlıklar değişmekle birlikte genel olarak analiz föyü dikkatlice okunmalı ve aşağıdaki işlemler yapılmalıdır.

- Analiz için gerekli kimyasal çözeltilerinin listesi çıkarılmalıdır.
- Listelenen çözeltiler usulüne uygun olarak teker teker hazırlanmalıdır.
 - Standart seri çözeltileri hazırlanmalı ya da analiz kitleri tedarik edilmelidir.
- Örnek, analiz için, analiz föyünde belirtilen şekilde hazırlanmalıdır.
- Kullanım talimatlarına uygun olarak cihaz çalışmaya hazır hale getirilmelidir.

Enstrumantal Gıda Analiz metotları Şu şekilde Gruplandırılabilir

- **Spektroskopi**
 - *Moleküler Spektroskopi
 - *Atomik Spektroskopi
 - *Polarimetri
- **Refraktometri**
- **Kromatografi**
 - *Sıvı Kromatografi
 - *Gaz Kromatografi
 - *Kağıt Kromatografi
 - *HPLC
- **Potansiyometri**

Gıda analizlerinde daha çok fotometrik yöntemler kullanılır. Bu şekilde seri ve az miktarda madde analizi yapılabilir.

Başlıca fotometrik analiz yöntemleri şunlardır:

- Spektrofotometri
- Kolorimetri
- Refraktometri
- Türbidometri
- Fluorometri

Gıdalarda yapılan enstrümental analizlerden bazıları verilmiştir.

ANALİZ	METOT
1.BESİN ETİKETİ ANALİZLERİ	
Nişasta (kantitatif) tayini	Polarimetrik yöntem
C Vitamini analizi	Spektrofotometrik yöntem
2. GENEL ANALİZLER	
Briks tayini	Refraktometrik yöntem
Kırılma indisi	Refraktometrik yöntem
Suda çözünen madde tayini	Refraktometrik yöntem
Kırılma indisi tayini	Refraktometrik metot
pH tayini	Potansiyometrik yöntem
3. KATKI MADDELERİ VE KONTAMİNANT ANALİZLERİ	
Aflatoksin (B1, B2, G1, G2)	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
Benzoat tayini	Spektrofotometrik yöntem
Boya tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Nitrit/nitrat tayini	Spektrofotometrik yöntem
Sorbat tayini	Spektrofotometrik yöntem
4. YAĞ ANALİZLERİ	
Yağ asitleri kompozisyonu	Gaz Kromatografisi
UV ışığında özgül soğurma	Spektrofotometrik yöntem
Yağ asitleri kompozisyonu	Gaz Kromatografisi
5. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİ ANALİZLERİ	
Glikomakropeptid analizi (PAS analizi)	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
6. ET VE ET ÜRÜNLERİ ANALİZLERİ	
Hidroksiprolin miktarı	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
Nitrit/nitrat tayini	Spektrofotometrik yöntem
7. MEYVE-SEBZE VE ÜRÜNLERİ ANALİZLERİ	
Benzoik asit tayini	Spektrofotometrik yöntem
Briks tayini	Refraktometrik yöntem
Hidroksimetil furfural tayini	Spektrofotometrik yöntem
Laktik asit tayini	Spektrofotometrik yöntem
Meyve oranı	Spektrofotometrik ve mineral analiz

Prolin tayini	Spektrofotometrik yöntemi
Salçada likopen tayini	Spektrofotometrik yöntem
Sirkede yapaylık tayini	Kolorimetrik yöntem
Suda çözünen madde miktarı	Refraktometrik yöntem
Boya maddeleri tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Fenolik madde profili	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi

8. TAHIL VE TAHIL ÜRÜNLERİ

Aflatoksin analizi	IAC ile saflaştırma sonrası HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) ile analiz
Nişasta tayini	Polarimetrik yöntem
Lipoksigenaz aktivitesi tayini	Spektrofotometrik yöntem

9. KURU BAKLAGİL ANALİZLERİ

Izoflavon miktarı	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi
Lipoksigenaz aktivitesi tayini	Spektrofotometrik yöntem

10. ŞEKERLİ/ÇİKOLATALI ÜRÜNLER ANALİZLERİ

Boya tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Diyastaz tayini	Kolorimetrik yöntem
Hidroksimetil furfural tayini	Spektrofotometrik yöntem
Nişasta miktarı	Polarimetrik yöntem
Şeker kompozisyonu analizi	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi

11. ÇAY ANALİZLERİ

Boya tayini (kalitatif)	Kağıt Kromatografisi
Antioksidan aktivitesi tayini	Spektrofotometrik yöntem
Fenolik madde profili	HPLC (Yüksek performans sıvı kromatografisi) yöntemi

Spektroskopi: Işın-madde etkileşmesini inceleyen bilim dalına spektroskopi denir.

Spektroskopi, Bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve değerlendirilmesi şeklinde de sınıflandırılmaktadır.

□ En geniş tanımıyla spektroskopi, yüklü ve yüksüz taneciklerle maddenin etkileşmesi sonucu meydana gelen olayların incelenmesine denir.

Elektromanyetik ışıma, uzayda çok büyük bir hızla hareket eden enerji türüdür.

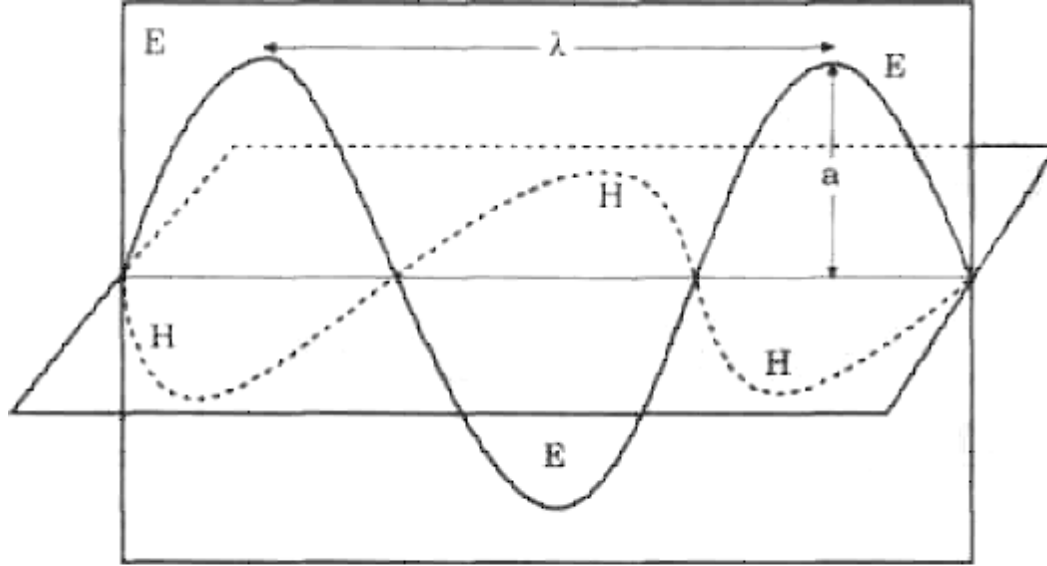
Türleri arasında;

- * Görünür ışık,
 - * Isı şeklinde algılanan infrared (kırmızı ötesi) ışınları,
 - * X-ışınları ve radyo dalgaları sayılabilir.
- Işık, dalga ve tanecik özellikleriyle tanımlanmaktadır.

Işının uzaydaki hareketi dalgalar halindedir.

Manyetik ve elektriksel iki bileşeni vardır

Işımanın dalga özelliği: a =genlik



Şekil.1, Elektromagnetik dalga. E bu dalganın elektrik vektörü, H manyetik vektörü.
Bu iki vektör birbirine dik ve her ikisi de yayılma yönüne diktir.

□ Dalganın ilerleme yönüne dik olarak çizilen elektriksel alan vektörlerinden ayrı, bu vektörlere dik yönde oluşan manyetik alan vektörleri de vardır.

□ **Dalgaboyu (λ):** Işık dalgasının ard arda gelen maximum veya minimumları arasındaki doğrusal uzaklıktır ve birimi uzaklık birimidir. (cm, nm)

□ **Frekans (γ):** Belirli bir noktadan birim zamanda geçen dalga sayısı olup, birimi (s^{-1}) dir ve Hertz (Hz) olarak tanımlanır. γ ortama bağlı olmayıp, ışımının kaynağına bağlıdır.

□ **Foto elektrik olay:** Metal yüzeyinden ışıma ile elektronların koparılması olayıdır.

□ **Absorpsiyon (Soğurma):** Işıma enerjisinin madde tarafından tutulmasıdır.

Elektromanyetik ışımaya enerji taşıyan ve foton denilen taneciklerden oluşmuştur.

□ Işığın dalga özelliği ışımaya interferans (**girişim**) ve difraksiyon (**kırınım**) gibi davranışlarını açıklayabilmektedir.

□ **Işığın yayılma hızı** = $V = \lambda \cdot u$ Işımanın herhangi bir ortamdaki yayılma hızı, ortamın kırılma indisine bağlı olup; $V = C/n$ ile verilir.

C ışığın vakumdaki yayılma hızı olup $2,997 \times 10^8$ m/s

Elektromanyetik ışma türleri,

- Gözle algılayabildiğimiz görünür ışık ve ısı şeklinde algılayabildiğimiz infrared (kırmızı ötesi) ışınları;
- X-ışınları,
- Ultraviyole (mor ötesi),
- Mikrodalga
- Radyo ışınlarıdır.

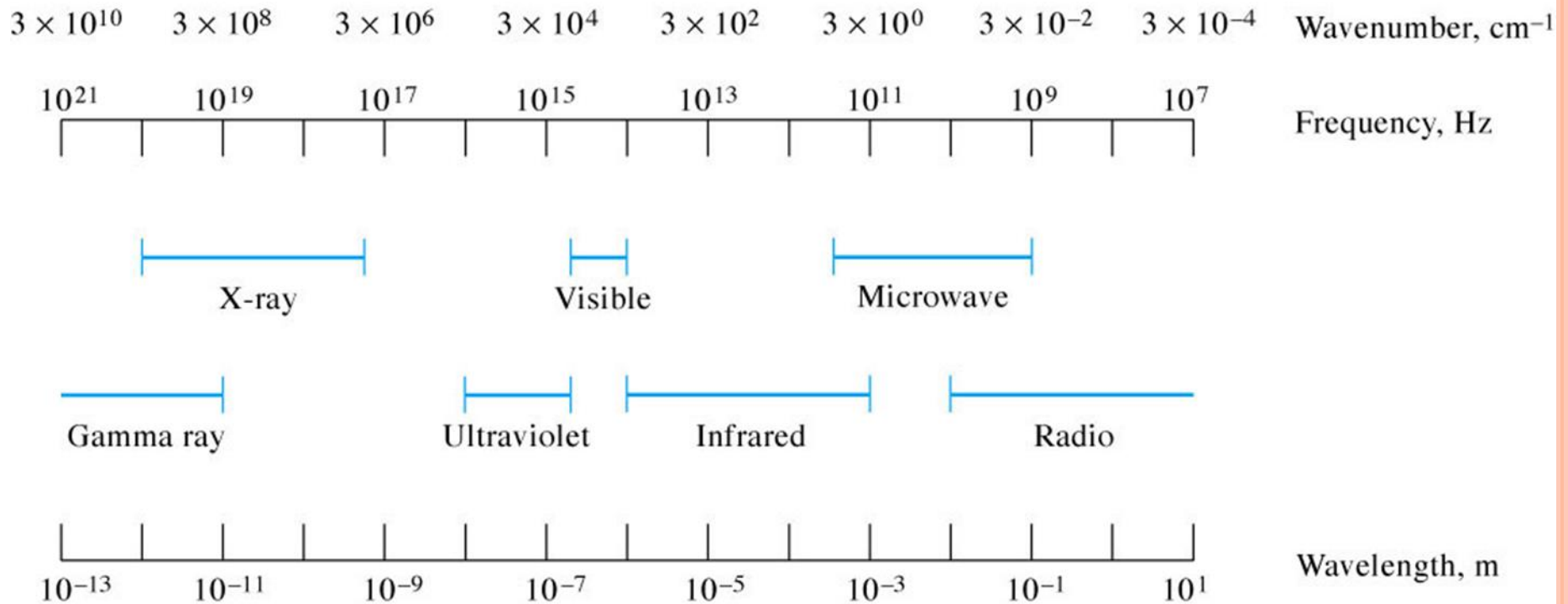
Elektromanyetik ışımının türlerini gösteren elektromanyetik spektrum şu şekilde sınıflandırılabilir

Bu aralıktaki elektromanyetik ışınlara, **elektromanyetik spektrum** denir.

□ UV görünür bölge ve IR ışınlarının havadaki hızı vakumdaki hızından % 0,1 küçüktür.

Böylece; $C = \lambda \cdot \nu = 3 \times 10^8$ m/s yazılabilir.

ELEKTROMAGNETIK SPEKTRUM



© 2007 Thomson Higher Education

Tablo 2.1.1. Elektromanyetik spektral bölgeleri

Spektral bölge	Dalga boyu	Uyarılma Sonucu
Gama ışınları	0.0001-0.01 nm	Çekirdek reaksiyonları
X ışınları	0.01-10 nm	İç elektronların transisyonu
Uzak UV	10 -200 nm	Atom veya moleküllerin iyonizasyonu
Yakın UV	200 -380 nm	Dış yörünge elektronlarının transisyonu
Visibl	380 -780 nm	Dış yörünge elektronlarının transisyonu
Yakın IR	0.78 -1.5 μ	Moleküler vibrasyon ve rotasyon
IR	1.5 -25 μ	Moleküler vibrasyon ve rotasyon
Uzak IR	25 μ -1mm	Moleküler rotasyon
Mikro dalgalar	0.1 – 100 cm	Moleküler rotasyon
Radyo dalgaları	100 cm – 10-15 km	Nükleer manyetik rezonans

Gamma ışınları Nükleer geçiş ile yani çekirdekten geçiş ile oluşur.

X,UV Işınları Elektronik geçiş yani iç elektronların uyarılması ile olur.

IR Titreşim geçişi ile oluşur.

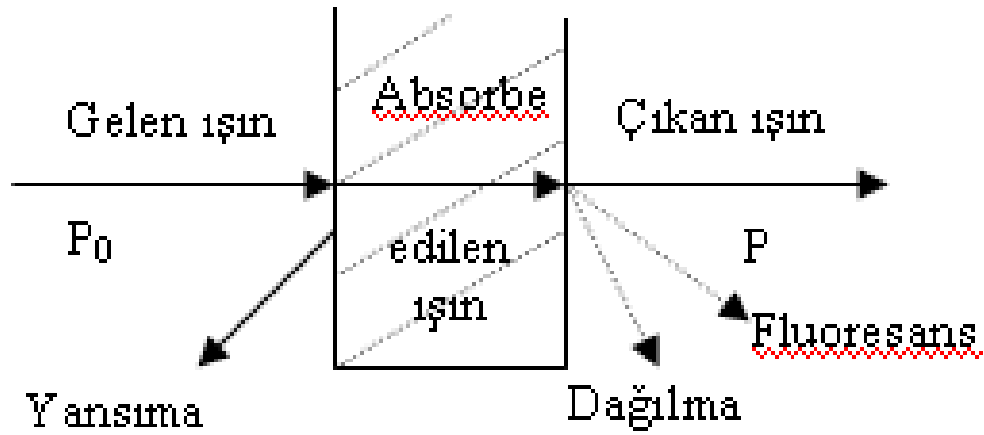
ESR, NMR Elektronun magnetik alandan dolayı spin yönlenmesi ile oluşur.

Bir madde üzerine gönderilen ışın, bu maddenin atom veya molekülleri ile etkileşime girer. Etkileşim, maddenin ve gönderilen ışının özelliklerine göre farklı şekilde olur.

Sonuç olarak ışın ya maddeden geçerek ilerler ya da madde tarafından soğurulur, yansır veya saçılır. Işın ile madde arasındaki etkileşimler şunlardır:

Etkileşim maddenin özelliğine bağlı olarak radyasyon (ışınım):

- ya geçer gider
- ya absorbe edilir
- ya yansır
- ya da dağılmaya uğrar.



Radyasyonun(ışımının) madde ile etkileşimi

Spektroskopik Yöntemler

- Spektrofotometri (UV-GB, IR, X ışını)
- Kolorimetri
- Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
- NMR Spektroskopisi
- ESR (Elektron Spin Rezonans) Spektroskopisi
- (Kütle Spektrometrisi)
- Emisyon Spektroskopisi
- Atomik Emisyon Spektroskopisi
- Floresan Spektroskopisi
- Radyokimyasal Yöntemler

ÖLÇÜLEN ÖZELLİK

İŞİNİN
ABSORPLANMASI

İŞİNİN
YAYILMASI
(EMİSYON)

Spektroskopik Olmayan Yöntemler

- Türbidimetri
- Nefelometri
- Raman Spektroskopisi
- Refraktometri
- İnterferometri
- X ışını Difraksiyonu
- Elektron Difraksiyonu
- Polarimetri

ÖLÇÜLEN ÖZELLİK

İŞİNİN SAÇILMASI

İŞİNİN
KIRILMASI

İŞİNİN
KİRİNİMA
UĞRAMASI

İŞİNİN KUTUPLANMA
ÖZELLİKLERİNİN
DEĞİŞİMİ

Spektroskopik Yöntemler

Spektroskopik yöntemler temelde iki gruba ayrılır:

- Atomik Spektroskopi
- Moleküler Spektroskopi

1. Atomik Spektroskopi

Atomik spektrum sadece elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri içerir.

Bu geçişler sırasında absorplanan veya yayılan ışımının enerjisi, atomun potansiyel enerjisindeki değişim ile orantılıdır.

□ $E = h \nu$ eşitliği ile verilir. Bir atomun elektronlarının yüksek enerjili düzeylere uyarılmasında absorplanan veya uyarılmış bir atomun temel düzeye dönüşü sırasında yayılan ışımın enerjileri, elektromanyetik spektrumun ultraviyole veya görünür bölge sınırları içindedir.

2. Moleküler Spektroskopi

Moleküler spektrum, elektronik düzeyler arasındaki geçişlere ek olarak dönme ve titreşim enerji düzeyleri arasındaki geçişleri de içerir. Bu geçişler sırasında bir molekülün toplam enerjisi şu eşitlikle verilir:

$$E_{\text{toplam}} = E_{\text{elektronik}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{dönme}}$$

Bu nedenle moleküllerin spektrumları atom spektrumlarına oranla daha karmaşıktır.

Bu ana bileşenlere ek olarak spektrometrelerde ışığı toplamak, odaklamak, yansıtma, iki demete bölmek ve örneğin üzerine belli bir şiddetle göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüleri ve giriş çıkış aralıkları vardır.

Örnek ise kullanılan dalga boyu bölgesinde ışını geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir.

Dalga boyu, nm	100	200	400	700	1000	2000	4000	7000	10000	20000	40000
Spektral Bölge	VAC		UV	Görünür	Yakın IR		IR		Uzak IR		
(a) Kaynaklar	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="display: flex; justify-content: space-between; width: 100%;"> Ar lamba Xe lamba H₂ veya D₂ lamba Tungsten lamba Nernst çubuğu (ZrO₂+Y₂O₃) Nichrome teli (Ni+Cr) Globar (SiC) </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; width: 100%; margin-top: 20px;"> Oyuk katot lambalar Lazerler </div> </div>										
Sürekli											
Çizgi											

Tablo 1.5: Işın Kaynakları

Dalga Boyu Seçiciler

Bunlar başlıca iki kısma ayrılır:

- Filtreler,
- Monokromatörler.

Filtreler, sürekli ışın veren bir kaynağın yaydığı ışınlardan belli bir ışımaya bandındaki diğer dalga boylarını absorplayarak çalışır. **Absorpsiyon filtrelerinde** etkin bant genişliği 30-250 nm aralığındadır.

Absorpsiyona duyarlı çalışan **filtreler** görünür bölge (GB) de kullanılır. Genelde renkli camdırlar. Bunun dışında **girişim filtreleri**, UV, GB ve IR bölgelerde kullanılır. Girişim filtreleri ile çok dar ışın bandı elde etmek için optik girişimden yararlanır. Filtreler basit sağlam ve ucuzdur.

Çeşitli dalga boylarından (polikromatik) oluşan bir ışın demetini tek dalga boylu (monokromatik) demetler haline dönüştürmek için kullanılan düzeneklere monokromatör denir. **Monokromatör** olarak prizmalar veya optik ağ denilen parçalar kullanılır.

Numune Kapları

Emisyon spektroskopisi hariç bütün spektroskopik yöntemlerde numune kaplarına ihtiyaç duyulur. Numune kapları hücre veya küvet olarak adlandırılır. Çalışılan dalga boyu aralığı için geçirgen olmalıdır. Mesela cam küvetler 350 nm altındaki ışığı absorplayacağı için UV bölgedeki çalışmalarda kuvars veya erimiş silis küvet kullanılır. Sodyum klorür kristalleri IR bölgede uygun hücre penceresi olarak kullanılır.

Plastik küvetler ucuz olmalarına karşılık kullanım sırasında kolayca çizilebilmeleri sebebiyle uzun ömürlü değildir. Kuvars küvetler ideal olmakla birlikte çok pahalıdır. Cam küvetler ise ucuz ve dayanıklı oldukları için en çok kullanılan küvetlerdir.

Spektrofotometrede doğru bir ölçüm yapabilmek

- Dalga boyuna uygun, birbiriyle uyumlu, iyi kalite küvetler kullanılmalı,
- Küvetlerin temiz ve çizilmemiş olmasına dikkat edilmeli,
- Aşınma ve eskimeden gelebilecek farklılıkları belirlemek için küvetler düzenli olarak birbirlerine karşı kalibre edilmeli,
- Küvetler cihaza yerleştirilirken ışık giriş ve çıkış yönlerine küvetlerin cilalı kısımlar gelmeli,
- Kullanım esnasında cilalı olan kısımlardan tutulmamalı,
- Küvetler kurutma veya başka amaçlarla ısıtılmamalıdır.

Küvetlerin temizliđi

□ Küvetler kullanıldıktan hemen sonra çeşme suyu ve ardından saf sudan geçirilmelidir.

□ Aşırı kirlenen küvetler deterjanlı su, çeşme suyu ve saf su ile sırasıyla yıkanmalıdır.

□ Kesinlikle fırça kullanılmamalıdır.

□ Deterjanla da temizlenemeyen küvetler %20'lik nitrik asit içerisinde bir gece bekletildikten sonra saf sudan geçirilmelidir.

Küvet temizliğinde %10'luk NaOH'da kullanılabilir. Ancak küvetler bu çözeltide fazla bırakılmamalıdır.

Gelişmiş cihazlarda küvete numunenin alınması, numunenin tahliyesi ve küvetlerin temizliği otomatik olarak yapılmaktadır.

Dedektörler

Maddenin ışığı absorplayıp absorplamadığını anlamak için ışık kaynağından gelen ışığın şiddetinin ölçülmesi amacıyla spektrofotometrelerde kullanılan bileşene dedektör denir.

Bir dedektörün,

- Işığa karşı duyarlı olması,
- Işık şiddetiyle doğru orantılı bir sinyal üretmesi,
- Üzerine düşen ışığa cevap verme, yani sinyal üretme süresinin kısa olması,
- Kararlı olması,
- Üretilen elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi istenir.

Ultraviyole ve görünür bölgede kullanılabilen üç tür dedektör vardır.

Fotovoltaik Dedektör

Fotovoltaik dedektörlerde, ışık, selenyum (Se) veya silisyum (Si) gibi bir yarı iletken madde tarafından absorplandığında iletkenlik bandına geçen elektronlar nedeniyle bu yarı iletkenle temasta olan bir metal film (Ag) arasında bir gerilim farkı oluşur.

PbS, CdSe ve CdS gibi yarı iletken maddelerle ise **foto iletken dedektörler** yapılır. Bu tür dedektörlerde, ışık absorpsiyonu ile iletkenlik bandına çıkarılan elektronlar, ışık şiddetiyle orantılı bir elektrik akımını oluşturur.

Fototüp

Alkali metal oksit filmlerden yapılmış foto katotlar üzerine düşen fotonlar bu yüzeyden elektron koparır ve elektronlar bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir.

Fotoçoğaltıcı Tüp

Fotokatot yüzeyinden foton çarpması ile fırlatılan elektronlar diyot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve diyoda çarpan her bir elektron, diyot yüzeyinden 3-5 elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir. Bu dedektörlerin duyarlı oldukları λ aralığı da farklıdır. Daha hızlı bir dedektör olan fotodiyot dizisi ile birçok λ 'da aynı zamanda ve çok hızlı bir biçimde ölçüm yapılabilir

Spektrofotometrelerin Çalışma Prensibi

Spektrofotometrelerin temel çalışma prensibi, hazırlanan çözülden belirli dalga boyunda ışık geçirilmesi ve bu ışığın ne kadarının çözelti tarafından tutulduğunun bulunması esasına dayanır. Çözeltinin içerisindeki madde miktarı ne kadar fazla ise çözelti tarafından tutulan ışın miktarı da o oranda fazla olur. Çözelti içerisindeki bütün maddeler, ışığın bir dalga boyunu tutarken diğerlerini yansıtır veya geçirir. Maddenin belli bir dalga boyundaki bir ışını tutması, onun diğer fiziksel ve kimyasal özellikleri (yoğunluk, erime, kaynama noktası, donma noktası vb.) gibi sabit bir özelliğidir.

Spektrofotometrik ölçüm için üç tip çözelti hazırlanır. Bunlar: Kör, numune ve standart çözeltileridir.

➤ **Kör (tanık, şahit) Çözelti:** Spektrofotometrede okuma yapmadan önce absorbansı sıfıra veya %transmittansı 100'e ayarlamak için kullanılan çözeltidir. Bu amaçla yapılan işleme “kör ayarı” veya “0 ve 100 ayarı” denir. Üç tip kör çözeltisi vardır. Bunlar:

□ **Optik kör;** standart çözelti serisi hazırlanırken stok standart çözelti hariç diğer kimyasalların konulmasıyla hazırlanan 0,0 konsantrasyonlu çözeltidir. Çözeltilerden ve küvetten gelebilecek absorbansları ortadan kaldırmak için kullanılır. Bunun analiz öncesi yapılması zorunlu olmakla beraber analiz sırasında da yapılması gerekebilir.

Reaktif körü; bulanık veya renkli reaktifler kullanıldığında içinde sadece o reaktifin olduğu kör çözelti olup o reaktiften gelebilecek absorbansı tespit etmek için kullanılır.

□ **Numune körü;** renkli veya bulanık numunelerin kullanıldığı ölçümlerde numunenin renginden gelebilecek absorbansı tespit etmek için kullanılan, içinde sadece numunenin bulunduğu kör çözeltidir.

Spektrofotometre optik köre karşı sıfıra ayarlanmışsa, **reaktif körünün absorbans değeri**, numune ve standartların absorbansından çıkarılır. **Numune körünün absorbansı** ise sadece numunenin absorbansından çıkarılarak hesaplama yapılır.

➤ **Standart Çözelti:** Miktarı bulunmak istenen maddenin bilinen konsantrasyonlardaki çözeltisidir. Bir veya birden fazla olabilir. Birden fazla olduğunda grafik çizilir.

➤ **Numune Çözeltisi:** İçindeki madde miktarını tespit etmek istediğimiz çözeltidir.

Monokromatik (tek dalga boylu ışığa) ve I_0 şiddetindeki bir ışık demeti, kalınlığı b cm olan bir tüpte bulunan çözeltildeki herhangi bir molekül tarafından absorplandığında şiddeti azalır ve tüpü I şiddetinde terkeder.

Geçirgenlik (T): Geçen ışık şiddetinin gelen ışık şiddetine oranıdır. Genellikle yüzde geçirgenlik olarak ifade edilir.

$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100$$

Absorbans ile geçirgenlik arasında ,

$$A = - \log T = \log I / T = \log 100 / \%T$$

$$A = \log 100 - \log \%T$$

$$A = - \log T = 2 - \log \% T \quad \text{ilişkisi vardır.}$$

$$A = \log(I_0/I)$$

Lambert-Beer kanunu: Bir çözülden geçen ışık miktarı, ışığın çözelti içinde katettiği yol ve çözelti konsantrasyonu ile logaritmik olarak ters orantılı, absorplanan ışık miktarı ise doğru orantılıdır.

Absorbans(A): Gelen ışık şiddetinin geçen ışık şiddetine oranının logaritmasıdır. Absorbans ile geçirgenlik ters orantılıdır. Biri artarken diğeri azalır. Absorbans birimi yoktur.

Bir çözeltinin geçirgenliği ve absorbansı; ışığın geçtiği yolun kalınlığına (küvet kalınlığı), çözeltinin konsatrasyonuna ve her bileşik için sabit olan molar absorpsiyon katsayısına bağlıdır. Moleküllerin seçilen dalgaboyundaki ışımayı absorplaması sonucu ortaya çıkan azalma **Beer- Lambert** eşitliği ile verilir. Bu eşitlik:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon bc = A \text{ şeklinde ifade edilir.}$$

Burada:

I_0 : Örnek kabına giren ışık şiddeti

I : Örnek kabını terkeden ışık şiddeti

ϵ : Molar absorpsiyon katsayısı (lt / mol.cm)

b : Örnek kabının kalınlığı (cm)

c : Derişim (mol / lt)

A : Absorbans



Molar Absorpsiyon Katsayısı (Absorptivite (ϵ)): Birim konsantrasyonda birim kalınlıktaki numunenin absorpsiyonudur. Birimi, b ve C 'ye bağlıdır. Çözeltinin konsantrasyonu molarite (mol/litre) cinsinden verilmişse, absorptiviteye “**Molar absorpsiyon katsayısı**” adı verilir. Absorpsiyon, ışın demetinin geçtiği çözeltinin genişliği ve absorblayıcı türlerin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

$$A \propto b \cdot C \text{ yani } A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Çözeltide, uygulanan dalgaboyundaki ışığı absorblayacak birden fazla molekül varsa, absorpsiyon toplamsal olduğundan,

$$A = A_1 + A_2 + \dots = \epsilon_1 b c_1 + \epsilon_2 b c_2 + \dots \text{ eşitliği geçerlidir.}$$

ϵ her madde ve her dalga boyu için farklı değerlerdir.

Bu eşitlikle ifade edilen kanuna Lambert – Beer Kanunu denir. Absorpsiyon ölçümlerinin temel kanunudur.

Lambert-Beer kanunu seyreltik çözeltiler için geçerlidir. 0.01 M 'dan daha seyreltik çözeltiler için uygundur.

Lambert-Beer Yasasından Sapmalar

- **Derişim Etkisi (Tabii sapma):**0.01 M dan daha derişik çözeltilerde sapma olur. Nedeni artan tanecik sayısı nedeniyle taneciklerin etkileşimleri artar ve molar absorpsiyon katsayısını değiştirirler. Ortamdaki absorpsiyon yapmayan türler fazla ise de sapma olur. Kırılma indisi derişimle artar. Ancak bu düzeltilbilir. 10^{-2} M dan daha derişik çözeltilerde kırılma indisi önemsizdir.
- **Kimyasal Sebepler (Kimyasal sapma):** Absorplayıcı türlerin çözücü ile kimyasal reaksiyonları sonucu gözlenen sapmadır. Absorpsiyon yapan türün derişimi kimyasal reaksiyonlar sonucu değişıyorsa absorbans da değişir. Ortamdaki asitler ve çözücü önemli etkendir.
- **Cihazdan Kaynaklanan Sebepler (Aletsel sapma):** Kullanılan ışığın tek dalga boylu olmamasından kaynaklanan sapmadır. Etkin bant genişliği geniş olan cihazlarda seçimlilik az olacaktır. Çünkü dalga boyu aralığı biraz fazla olacağı için soğurma yapan başka türlerde ölçülmüş olur. Cihazın parçalarından kaynaklanan saçılmalar ve yansımalar dedektöre ulaşırsa yanlış değerler elde edilir.

Beer'den sapma olduğunda A (Absorbans) ve C (Konsantrasyon) arasındaki ilişki lineer değildir.

Beer- Lambert eşitliğinin geçerli olması için şunlar sağlanmalıdır:

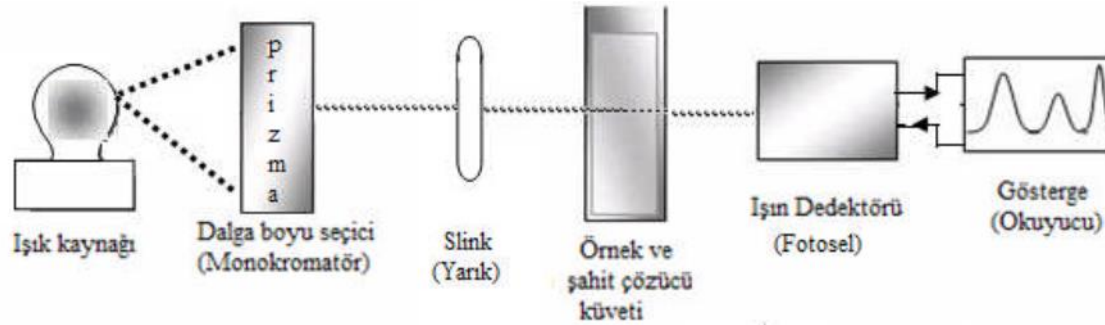
- Uygulanan ışık monokromatik olmalıdır
- Örnek homojen olmalıdır. (absorpsiyonun örneğin her yerinde eşit olması için)
- Birden fazla bileşen varsa, her bir bileşen diğerlerinin absorpsiyonunu etkilememelidir.
- Absorbans ölçümü sırasında numunede herhangi bir reaksiyon olmamalıdır.

UV ve Görünür Bölge Absorpsiyon Spektrofotometreleri

Bir çözeltinin absorbansını ve ya geçirgenliğini ölçmek için **spektrofotometre** adı verilen bir cihaz kullanılır. Spektrofotometrelerde dalga boyu değiştirilerek dalga boyuna karşı absorbans veya transmitans ölçümü alınır.

<u>Dalga Boyu(nm)</u>	<u>Bölge</u>	<u>Gözle Görünen Renk</u>
<380	UV	Görünmez
380-440	Görünür	Mor
440-500	Görünür	Mavi
500-580	Görünür	Yeşil
580-600	Görünür	Sarı
600-620	Görünür	Turuncu
620-750	Görünür	Kırmızı
750-2000	IR	Görünmez

Çizelge 2. 1: Bir çözeltinin absorpladığı ışınm dalga boyu, bölgesi ve gözle görünen rengi



Spektrofotometrenin Başlıca Kısımları

▣ **Işık kaynağı:** İstenilen dalga boylarını içerisine alan bir ışık kaynağıdır.

180–375 nm (nanometre)arasındaki çalışmalar için **döteryum lambası**,

350–800 nm arasındaki çalışmalar için ise **tungsten lamba** gereklidir.

UV –Görünür bölge spektrofotometrelerinde her iki lamba da bulunur.

▣ **Dalga boyu seçici (Monokromatör):** Monokromatik ışın (tek bir dalga boyunda olan ışın) meydana getiren bir prizma sistemidir. Monokromatörün önünde bulunan slim (yarık) yardımıyla istenilen dalga boyundaki ışının örnek ve şahit çözücü küvetine ulaşması sağlanır.

▣ **Örnek ve şahit çözücü küveti:** İçerisine örneğin renklendirilmiş çözeltisi ile şahit çözücünün konulduğu küvettir. Buna **absorbans hücresi** de denir.

Küvetler cam veya kuvartzdan yapılmıştır.

▣ 200–350 nm arasındaki dalga boyunda çalışılacaksa kuvartz küvetler

kullanılmalıdır. Çünkü bu dalga boyları aralığında kuvartz ultraviyole ışığı geçirebilir.

Işın dedektörü(Fotosel): Spektrofotometrede ışık enerjisini elektrik enerjisine dönüştüren düzendir. Çözümden geçen ışınlar ışın dedektörüne (fotosele) gelerek ışık yoğunluğu ile orantılı olarak bir elektrik akımı oluştururlar.

- UV ve görünür bölge spektrofotometrelerinde **fototüpler ve fotoçoğaltıcı tüpler** dedektör olarak kullanılmaktadırlar.
- Gösterge(Okuyucu); Fotoselde oluşan elektrik akımının milivolt cinsinden ölçüldüğü aygıttır. Buradan absorbans (A) veya geçirgenlik (T) okunur. Bazı cihazlarda doğrudan konsantrasyon (C) okuması da yapılabilmektedir.

Spektrofotometrik Analizler

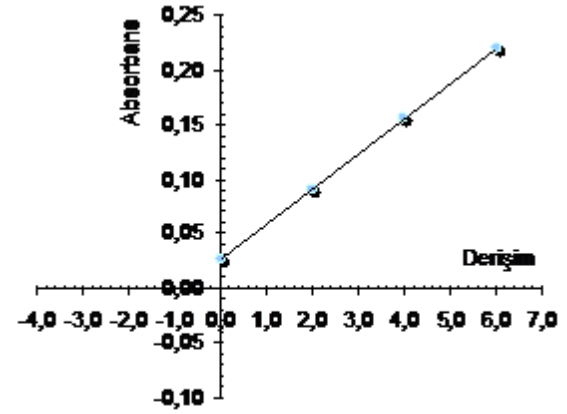
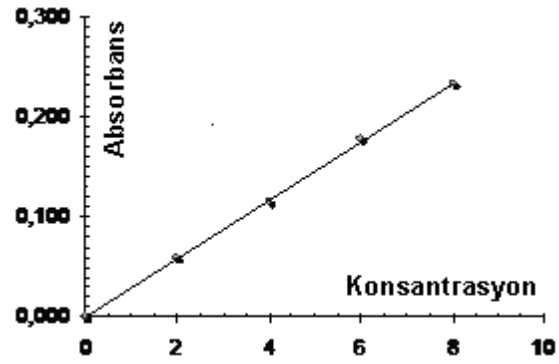
Nitel analizler: Geniş uygulama alanları, yüksek duyarlılık, seçicilik ve tekrarlanabilirliğin iyi olması, uygulanabilirlik ve hızlılığın iyi olması gibi nedenlerle tercih edilirler.

Nitel analizlerde, gıdalardaki saf maddelerin yapılarının saptanmasında, fonksiyonel grubun bulunup bulunmadığının incelenmesinde, bir fonksiyonel grubun bileşikteki yerinin saptanmasında kullanılır.

Nicel analizler: Nicel analizde Lambert –Beer kanunundan yararlanır. Bu kanuna göre, absorbans konsantrasyonla doğru orantılıdır.

Tayin tek standartla, kalibrasyon eğrisi ile ve standart katma metodu ile yapılabilir. Bunun için analiz edilecek maddenin absorblayacağı ışığın dalga boyu belirlenir (bu genellikle maddenin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyudur). Belirlenen dalga boyunda hazırlanan standart çözeltilerin absorbansları ölçülür ve konsantrasyona karşı kalibrasyon grafiği çizilir. Kalibrasyon grafiğinde standart çözeltilerin absorbans grafik denkleminde y değeri yerine, konsantrasyonu x değeri yerine konularak çizilir.

Sonra bilinmeyen (örneğin) absorbansı okunarak grafikten absorbansının kalibrasyon eğrisini kestiği yerden x eksenin dikme indirilerekte aynı şekilde bilinmeyen konsantrasyonu tayin edilir.



Kalibrasyon grafiklerinde örnekler

KIRILMA: Işığın saydam bir ortamdan başka bir saydam ortama geçerken ışınların bir kısmı yansiyarak geldiği ortama dönerken bir kısmı da ikinci ortama doğrultusu ve hızı değişerek geçer. Işığın ikinci ortama geçerken doğrultu **değiştirmesine ışının kırılması** denir. Kırılma indisi gerçekte kimyasal değil, fiziksel bir olaydır. Suyun içinden geçen ışınlar belli bir açıyla kırılırlar ve cisim sanki farklı yerdeymiş gibi görünür.

Işığın kırılması yalnızca suyun değil, tüm saydam sıvıların bir özelliğidir.

Işının ortam ile etkileşimi kırılma indisi ile ölçülür.

Bir maddenin kırılma indisi, o maddede yol alan ışının, boşlukta yol alan ışığa göre ne kadar yavaş ilerlediğini gösteren bir katsayıdır. Genellikle “n” sembolü ile gösterilir. Kırılma indisi saydam maddelerin ayırt edici bir özelliğidir.

Bazı maddelerin kırılma indisi;

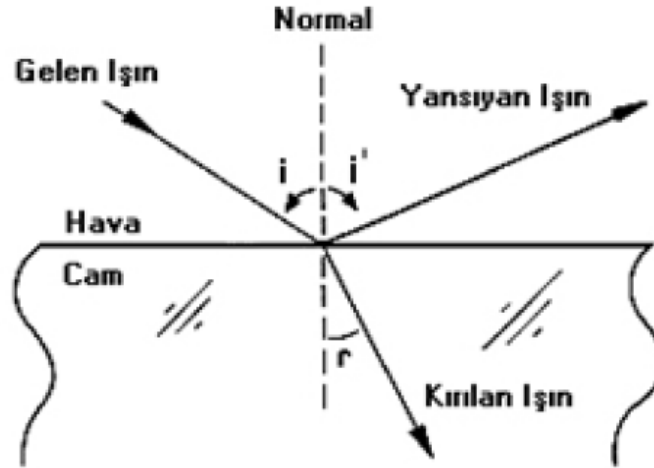
Hava: 1,00;

Su: 1,33;

Elmas: 2,42;

➤ Kırılma Kanunları

- Gelen ışın, normal ve kırılan ışın aynı düzlemedir.



Şekil 1.7: Kırılma kanunları

- Gelme açısının sinüsünün, kırılma açısının sinüsüne oranı her zaman sabittir. Bu sabit, ikinci ortamın birinci ortama göre kırılma indisine eşittir. Şekildeki açılara göre,

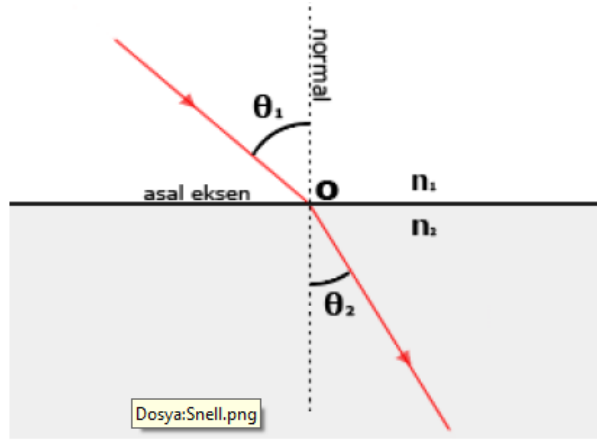
Kırılma indisi,

$$n_i = \frac{c}{v_i} \quad \text{şeklinde ifade edilir.}$$

n_i : Kırılma indisi

c : Işının boşluktaki hızı

v_i : Işının saydam ortamdaki hızı



$$\frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{n_2}{n_1}$$

şeklinde ifade edilir. Bu bağıntıya Snell bağıntısı denir. Bu bağıntıda;

n_1 : Yoğunluğu az olan ortamın kırılma indisi

n_2 : Yoğunluğu çok olan ortamın kırılma indisi

v_1 : Işığın yoğunluğu az olan ortamdaki hızı

v_2 : Işığın yoğunluğu çok olan ortamdaki hızını ifade eder.

Işık, yoğunluğu az ortamdaki hızından yoğunluğu fazla olan ortama girdiğinde hem daha fazla açıyla kırılır hem de hızı azalır.

Saydam bir ortamın kırılma indisinin başka bir saydam ortama göre kırılma indisine bağlı kırılma indisi denir. Örneğin, suyun cama göre kırılma indisi n_{su}/n_{cam} ' dir.

Saydam bir ortamın boşluğa göre kırılma indisine mutlak kırılma indisi denir. Bir ortamın mutlak kırılma indisi bulunurken ışığın boşluktaki hızının o ortam içerisindeki hızına oranı alınır.

Bir maddenin kırılma indisi aşağıdakilere bağlıdır;

- Işının dalga boyuna
- Sıcaklığa
- Derişime

Sıkıştırılabilen maddelerin kırılma indisleri basınca bağlı olarak da değişebilir.

Dalga boyunun kırılma indisinden dolayı, ışının dalga boyu belirtilmelidir.

Kırılma indisi değerleri, maddelerin belirgin özelliklerinden biri olarak tanımlanmıştır.

Kırılma indisinin ölçülmesine dayanan **refraktometri** yönteminde, maddelerin kırılma indisi değerleri, maddenin nitel analizinde, saflık derecesinin belirlenmesinde ve karışımların nicel analizinde kullanılmaktadır.

Kırılma indisi ölçümü yapan düzeneğe **refraktometre** adı verilir.

Refraktometreler,

Sıvı malzemelerin içindeki katı madde miktarını ve kırılma indislerini ölçmeye yarar. Refraktometre ile ölçümlerde saflığından emin olunan maddenin kırılma indisi ölçülür ve bulunan değer literatür verileriyle karşılaştırılır.

Yani bilinmeyen bir maddenin diğer fiziksel özellikleriyle, kırılma indisi bir araya gelince maddeyi teşhis etmek daha kolay olur.

Refraktometrik metotlar (kırılma indisi ölçümü),

yağ, meyve suyu gibi gıda ürünlerinin analizinde, şeker sanayisinde, eczacılık alanında, kimya sanayinde oldukça önemlidir.

Refraktometrik metotlar, kolaylık ve doğruluk açısından çoğunlukla kullanılan fiziksel metotlardan biridir.

Refraktometre cihazının yapısında prizmalar vardır. Gönderilen ışın, örnekten geçerek prizmaya değişik açılarla gelir. Gelen açı kritik açıdan küçükse aydınlık bölge oluşur. Gelen açı kritik açıdan büyükse karanlık bölge oluşur. Karanlık ve aydınlık bölgenin sınırı kritik açıya karşılık gelir.

Çeşitleri

Refraktif index, katı madde miktarı, kırılma indisi, şeker miktarı ve brix(suda çözünen kuru madde miktarı) aralıklarını ölçmek amacıyla çeşitli refraktometreler vardır.

- Abbe refraktometre
- İmmersiyonlu refraktometre
- Pulfrich refraktometre

olmak üzere üç çeşit refraktometre bilinmektedir.

Bunlardan en çok kullanılanı,

Abbe refraktometresidir. Ölçüm, tabii ışık kullanılarak ve birkaç damla sıvı ile yapılabilmektedir.

İmmersiyonlu refraktometrede 10-15 ml sıvı gerekir.

Pulfrich refraktometresi ise monokromatik ışın ile çalışır.

Abbe Refraktometresi

Kırılma indisi tayininde kullanılan aletlerden birisi de Abbe refraktometresidir. Abbe refraktometresinde iki prizmanın arasına kırılma indisi tayin edilecek madde sıvı film olarak yerleştirilir. Prizmalara gönderilen ışık ile kritik açıdan daha küçük açı ile gelen ışınların oluşturduğu aydınlık bölge ve kritik açıdan daha büyük açıyla gelen ışınların oluşturduğu karanlık bölge görülebilir.

Abbe refraktometresi, ayırım sınırı yarım gölge olan ve aynı okülerden ölçüm değerinin de görüldüğü masaüstü yapısında bir cihazdır. Prizma haznesi cihaz gövdesinden yüksek bir seviyededir ve çelik plakalarla kaplıdır. Sebebi; cihazın uzun kullanım ömürlü olmasıdır. Ayrıca ölçü ayırım sınırını belirleyen prizmanın, ayar düğmesi de cihazda mevcuttur. Genellikle cihaz kırılma indisi **1,3 ile 1,7 aralığında** olan maddelerin kırılma indislerini ölçmektedir.

Abbe refraktometresi aşağıdaki bölümlerden oluşur;

- Prizma haznesi
- Termometre haznesi
- Oküler
- Vidalar (makro ve mikro vidalar)

Abbe refraktometresi ile ölçüm yapabilmek için aşağıdaki işlem basamakları takip edilir;

□ **Önce cihaz gün ışığına yönlendirilir** (ya da ışık kaynağına bağlanır). Cihazın aynasını sağa sola çevirerek okülerden bakan göze ışığın en fazla gelmesi sağlanmalıdır.

□ **Prizmaların temiz olup olmadığı kontrol edilir.** Temiz değilse alkolle ıslatılmış, yumuşak bir bezle temizlenir ve kurulanır. Bunun için cihazın orta kısmındaki kilitleme düğmesi açılır ve prizmalar birbirinden ayrılıp, temizlenip tekrar eski hâline getirilir.

□ **Termometresi yerine takılır.** Sabit bir sıcaklık elde etmek için prizmaların etrafında sıcaklığı sabit olan su dolaştırılır (20 °C). Bazı refraktometrelerde termostat vardır. Bu durumda termostat 20 °C'ye ayarlanır.

□ **Saf su ile “0” ayarı yapılır.** Bunun için; Önce birkaç dakika prizmaların etrafında su dolaştırılarak prizmaların sıcaklığı 20 °C'ye getirilmesi sağlanır.

□ Sonra alttaki prizmaya birkaç damla saf su damlatılır.

Alttaki prizmaya su damlatılınca üsteki prizma özel düğmesi ile suyu sıçratmayacak şekilde yavaşça kapatılır. **Kırılma indisinin 20 °C'de 1,3330** olup olmadığı kontrol edilir. Değilse cihazın gösterge çizelgesi yaklaşık 1.33 kırılma indisine ayarlanır.

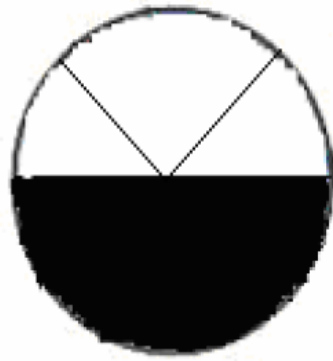
□ Ayarlama öncelikle, okülerden bakıldığında gösterge çizelgesinin üzerinde ayrı olarak görülen görüş alanındaki karanlık ve aydınlık alanların birbirinden net olarak ayrılmasını sağlamak, sonra da karanlık ve aydınlık alanları eşitlemek gerekir. Bu işlem bunları birbirinden ayıran çizgiyi, çapraz çizgilerin kesiştiği nokta ile çakıştırarak yapılır. Netleştirme işlemi cihazın sağ yanında bulunan prizmaya kumanda eden küçük vida ile çakıştırma ise örneğin konulduğu prizma ile birlikte gösterge çizelgesini de hareket ettiren büyük vida ile yapılır. Gerekirse oküler sağa sola döndürülerek göze göre ayarlanır.

□ Saf su ile ayarlama yapılırken netleştirme işleminden sonra büyük vida ile sıcaklık 20 °C'de iken gösterge çizelgesinin üst bölümünde kırılma indisi rakamlarında 1.333 değerine ait taksimat çizgisi, gösterge çizelgesi görüş alanının ortasında skalayı dik kesen sabit çizgi ile üst üste getirilir. 20 °C'nin dışındaki sıcaklıklarda yapılan ayarlamalarda sıcaklığa karşı gelen kırılma indisi ile sabit çizgi çakıştığında % kuru madde 0 (sıfır)dan farklı değer gösterebilir. Eğer örneğin kırılma indisi okunacaksa önemli olan belli sıcaklıkta saf suyun kırılma indisini ayarlamaktır. % kuru madde miktarı okunacaksa saf su ile % 0 kuru maddeye ayarlama yapılmalıdır.

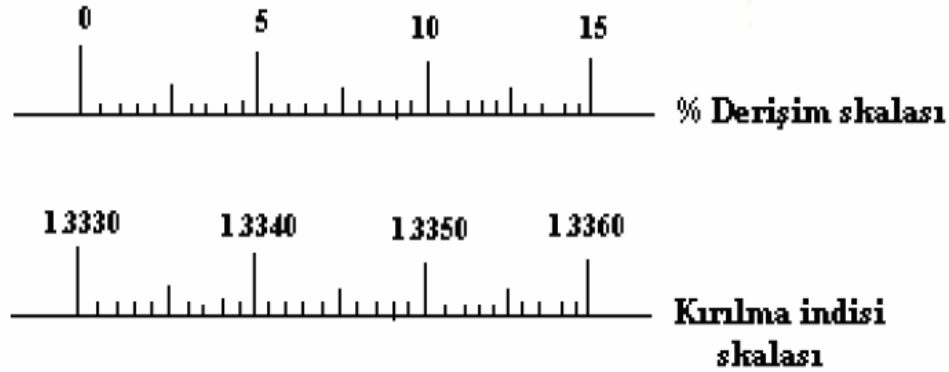
□ Bu durumda karanlık ve aydınlık sahayı ayıran net çizgi çapraz çizgilerin kesiştiği noktadan geçiyorsa cihaz ayarlanmış demektir. Aksi hâlde skalanın ayarı değiştirilmeden aletin sağ yanında ve en üstte bulunan üzeri kertikli kapak açılarak, altındaki vida tornavida ile döndürülerek çakıştırma yapılır. Böylece refraktometre ayarlanmış olur. Bu vida karanlık ve aydınlık sahaların oranlarını değiştirdiği hâlde skalayı hareket ettirmez.

Refraktometredeki gösterge çizelgesindeki üstteki skaladan ağırlıkça % derişim (kuru madde), alttaki skaladan da kırılma indisi okunur.

- Numune ile ölçüm yapılması için;
- Homojen hâle getirilmiş örnek çözeltiden birkaç damla pipet ile refraktometrenin prizmasına damlatılır ve hemen üstteki prizma yavaşça kapatılır.
- Okülerden bakılarak netleştirme işlemi yapılır. Okülerden bakıldığında yuvarlak olarak görülen görüş alanında karanlık alanın yukarıda kaldığı görülür.
- Çakışma yapmak için en alttaki büyük vida döndürülünce gösterge çizelgesi sola doğru hareket eder. Karanlık ve aydınlık sahalar tam eşitlendiğinde sabit çizginin çıktığı % kuru madde ve kırılma indisi değeri okunur.



Şekil 1.3: Okuma yaparken karanlık ve aydınlık sahanın netleştirilmesi ve karşılaştırılması



Şekil 1.4: Refraktometredeki skalalar

Okunan % kuru madde değerine ve kırılma indisi değerine gerekli ise sıcaklık ve diğer faktörlerden gelen düzeltmeler uygulanarak gerçek değer bulunur.

□ **Okuma işlemleri bitince prizma saf su ile temizlenir.** Yumuşak bir bez

parçası ya da tülbentle kurulama işlemleri yapılır. Prizmalar arasına çizilmelerini önlemek amacıyla, yumuşak bir kâğıt parçası konur.

Suda çözünmeyen bileşiklerle çalışılmış ise prizmaları alkol ya da benzen ile temizlemek gerekir.

□ Farklı dalga boylu ışıkta ölçülen kırılma indisleri, birbirinden çok farklı olmayan maddelerin kırılma indisleri ölçülürken karanlık ve aydınlık sahaların birbirinden tam ve kesin olarak ayrılmasını sağlamak zordur.

Bu durumlarda aydınlık saha ile karanlık saha arasında ve karanlık sahaya doğru koyulaşan mavi bir bant görülür. Bu durumda aydınlık sahanın bittiği hat çizgilerin kesiştiği noktalara karşılaştırılarak okuma yapılır.

Abbe refraktometresinin kullanıldığı alanlar:

- Gıda sanayi
- Kimya sanayi
- Farmasötik sanayi (Farmasötik: İlaçla ilgili bilim dalı)
- Petrol sanayi
- Yağ sanayi
- Araştırma laboratuvarları

Abbe refraktometresi bir laboratuvarda bulunması gereken önemli cihazlardan birisidir. Öteki cihazlarla çalışıldığında uzun zaman alacak bazı analizler bu cihazla çok kısa zamanda ve daha yüksek doğrulukla yapılabilir. Bakımının iyi yapılması hâlinde cihaz, laboratuvarda kullanılan diğer cihazlara göre genelde daha ucuz ve daha uzun ömürlüdür.

El Refraktometresi

El refraktometresi yüksek ve düşük vizkoziteye sahip akışkanların refraktif indexlerinin tayini için kullanılan bir cihazdır.

El tipi refraktometreler küçük hacimli, hafif olması nedeniyle, meyve suyu, süt, salça, reçel gibi çeşitli gıda endüstrilerinde, bahçede, tarlada veya işletmenin herhangi bir yerinde rahatlıkla kullanılmaktadır.

El refraktometresi asıl olarak meyve ve sebze fabrika sahalarında proses hattında hızlı ve anlık ölçümlerde kullanılır

El refraktometresi ile ölçüm yaparken:

- Refraktometreyi, eğik prizmanın bulunduğu taraf ışığa bakacak şekilde gövdesinden tutarak elinize alınız.
- Kapak kapalı konumda iken cihaz okülerini gözünüze konumlandırıp oküler üzerindeki ayar halkasını çevirerek refraktometre içindeki ölçü tablosunu net görene kadar sağa sola çeviriniz.

Sıfır ayarını yaparken:

- Önce prizma kapağını açarak eğik prizma yüzeyine 1-2 damla distile su damlatıp kapağı yavaşça kapatınız (Prizma yüzeyi ile kapak arasında ince bir su tabakası kalacaktır.) .
- Ölçü tablosunun 0 (sıfır) çizgisi civarında görülen koyu-açık renkli ayırım görüntüsünü; eğer değilse; ölçü tablosu sıfır çizgisi ile tam çakıştırmak üzere, kalibrasyon düğmesini çevirerek koyu-açık ayırımın ölçü tablosunun sıfır çizgisi ile tam çakışmasını sağlayınız.

Kalibrasyon sıvısı ile ölçüm sıvısının sıcaklıklarının aynı olması gerekir. Büyük sıcaklık farkı olması durumunda sıfır noktası ayarı 30 dk. kadar bekledikten sonra yapılmalıdır.

□ Kullanım sonrası cihaz asla su ile yıkanmamalıdır. Su ile ancak silerek temizlenebilir.

□ Optik kısımlar sert malzemelerle silmemelidir. Yumuşak bir bez parçası ile ya da tülbent ile temizlenebilir. Aksi takdirde bu şartlara uyulmadan kullanılan cihazların garantisi sona ermiş olur.

Kalibrasyonu

Kalibrasyon, ölçülen büyüklüğün gerçek değeri ile onu ölçen aletin verdiği netice arasında bağıntı kurma işlemidir. Kalibrasyon, ölçümler dizisidir. Doğruluğu bilinen bir ölçüm standardını ve sistemini kullanarak diğer test ve ölçü aletlerinin doğruluğunun ölçülmesi, sapmaların belirlenmesi ve raporlanması işlemidir.

Kalibrasyon sırasında öncelikle ortam şartları sağlanmalıdır. Laboratuvarda ortam sıcaklığı $20,0 \pm 0,5$ °C, nem % 80'den az olmalı ve mekanik titreşimler olmamalıdır.

Kalibrasyon sırasında kullanılacak malzemeler:

- Alkol
- Pipet
- α -bromnaftalin
- Saf su
- Pamuk
- Referans (cam prizma veya sakkaroz çözeltileri)

Işığın Dağılması

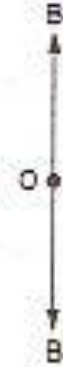
Dispersiyon

Kırılmanın dalga boyu ile değişimine dağılma adı verilir. Dispersiyon nedeniyle kırılma indisleri, kullanılan dalga boyu belirtilerek verilir: kırılma indisinin 20 °C sıcaklıkta, sodyum D hatları kullanılarak ölçülen kırılma indisi:

Işımanın polarizasyonu:

Tabii ışık doğrudan doğruya bir kaynaktan gelen (mesela Güneş veya bir alev) her yönde ve her düzlemde yayılan bir titreşim olayıdır. Düzlemsel polarize ışık ise yayılma yönüne dik olan tek bir düzlemde titreşen ışıktır.

Işık dalgası, genellikle her düzlemde ilerleyen dalgaların karışımıdır. Tek bir düzlemde ilerleyen ışık dalgasına düzlemsel polarize ışık denir. Bir çok düzlemde ve tek düzlemde ilerleyen ışık dalgasının karşıdan görünümü:

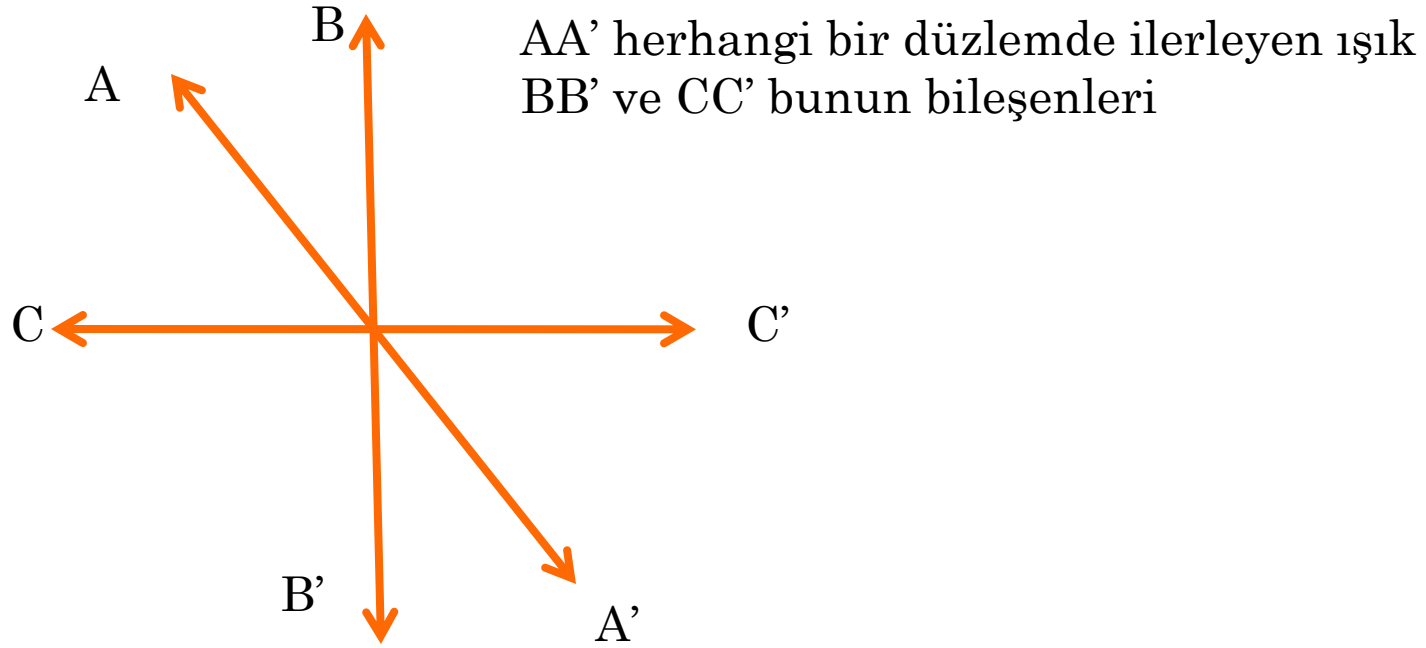


Bir ışık dalgası yayılırken, elektriksel titreşimler bir düzlem içinde kalıyorsa bu ışık dalgasına **düzlemsel polarize ışık**, ışık titreşimlerinin bir düzlem içinde olmasının sağlanmasına da **polarizasyon** denir.

Düzlem polarize ışık bir düzlemde titreştiği için genelde polarizasyon düzlemi yerine titreşim düzlemi terimi kullanılır. Titreşim düzlemi yayılma yönünü (ışın) ve elektrik vektörün salınım ya da titreşimlerini kapsayan düzlemdir. Düzlem polarize ışık çoğunlukla şu yollardan biriyle elde edilir:

- Çift kırıcı kristaller aracılığıyla,
- Bazı kristallerdeki farklı soğurma (absorbsiyon) ile,
- Yansıma ve kırılma yoluyla.

Herhangi bir düzlemde ilerleyen ışık dalgası incelenirse bunun iki bileşene ayrıldığı, bunların birbirine dik bileşenler olduğu görülür. Bir başka deyişle, bir düzlemdeki ışık dalgası birbirine dik iki bileşenin bileşkesi olarak düşünülebilir:



- Düzlemsel polarize ışık ile **asimetrik ve ışığı absorplamayan maddeler** etkileştiği zaman, polarize ışığın düzlemi sağa (+) veya sola (-) açı değiştirir.

Polarize ışık düzlemini çeviren maddelere optikçe aktif maddeler denir. Simetri düzlemi olmayan ya da simetri merkezi olmayan maddeler optikçe aktif olabilir. Buna örnek olarak asimetrik karbon atomu içeren molekülleri gösterebiliriz. Aynı tipte iki simetrik karbon atomu içeren moleküller ise optikçe aktif değildir. Optikçe aktif maddelerin polarize ışığı sağa çeviren izomerine dekstro, sola çeviren izomerine de levo denir.

Sapma yönünü ve açısını bulmaya yarayan ayağıtlara **polarimetre** denir.

POLARİZE GÜNEŞ GÖZLÜKLERİ

Güneş ışığı yatay bir yüzeyden yansıdığında çoğu kez son derece rahatsız edici bir parlama meydana gelir. Bu tür parlamalara uzun süre bakmanın bazı göz rahatsızlıklarına özellikle katarakta yol açtığı da saptanmıştır.

Örneğin; denizciler durgun deniz yüzeyinden yansıyan yatay polarizasyondan etkilenmektedirler. Polarize güneş gözlüğünün aksı bu yansımaya dik olarak yerleştirilirse sadece dikey titreşimler geçerek, yatay yansımalar ise güneş gözlüğü tarafından absorbe edilecektir. Şoförler ve kaynakçılar da polarize gözlüklerden yararlanmaktadırlar.

Tüm güneş gözlükleri parlamaları belli oranda azaltır. Ancak sadece yüksek kaliteli polarizasyon filtresi sayesinde seçici geçirgenliği sonucu parlamaları engelleyip ışığın göze ulaşmasını sağlar. Polarize filtre, sadece bir düzlem yönündeki ışık dalgasının geçmesine izin verir. Eğer iki polarize filtre birbirine dik açılı olacak şekilde çakıştırılırsa ışık geçirmeyecektir. Gerek içeride, gerekse dışarıda parlak ışığa maruz kalan birçok kişi optik açıdan uygun güneş lensleri kullanarak rahat etmektedir.

Işımanın saçılması:

Fotonun örnekteki parçacıklara çarparak yön değiştirmesine saçılma adı verilir.

-Görünür bölge ışınması kullanıldığında, **kolloidal** ve bulanık çözeltilerde gözlenen saçılma, **Tyndall** saçılmasıdır.

Parçacık çaplarının, ışının dalga boyuna eşit veya daha büyük olduğu durumlarda olur ve saçılma gözle görülür.

-Çözünmüş moleküller veya çok atomlu iyonlardan saçılması **Rayleigh** saçılmasıdır. Parçacık çaplarının, ışının dalga boyundan daha küçük olduğu durumlarda

-Parçacıklarla etkileşen ışığın, ışığı saçan moleküllerin titreşim enerji düzeylerine göre dalga boyunun

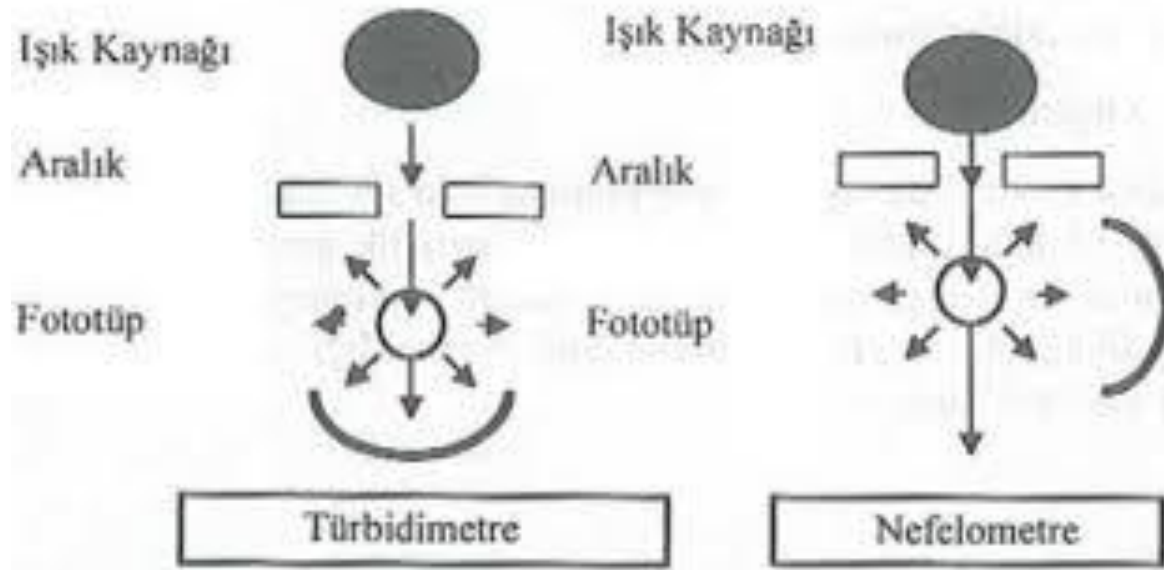
değiştirdiği saçılma türü **Raman** saçılmasıdır. Rayleigh gibi parçacık çaplarının, ışının dalga boyundan daha küçük olduğu durumlarda ancak şiddeti düşük.

Tyndall saçılmasına;pencereden giren ışınların toz taneciklerinin görünmesine neden olması örnek verilebilir.

Gündüz gökyüzünün mavi görünmesi Raleigh saçılmasına örnek verilebilir.(Küçük dalga boylu mavi ışın atmosferde diğer ışınlara göre daha büyük şiddette olacağından gökyüzü mavi görünür.)

RAYLEIGH SAÇILMASI

- Çapları gelen ışık boyundan çok daha küçük olan tanecilerden oluşan saçılmaya RAYLEIGH SAÇILMASI adı verilir. Rayleigh saçılmış ışımının yoğunluğu $1/\lambda$ ile orantılıdır. Dolayısıyla küçük dalga boyuna sahip olan ışımalar büyük dalga boyuna göre daha şiddetli saçılır.



Turbidimetre ile bulanıklık tayini yapılır