

NTGT169 ENSTRUMENTAL ANALİZ

DERS 2

(Spektroskopik Yöntemler, Refraktometre)

Dr. Öğr. Üyesi Hicran UZUN KARKA

DUYUSAL ANALİZLER

Gıdaların, dokunma, işitme, tatma, koklama ve görme ile hissedilen karakteristiklerini algılamak, ölçmek, analizlemek ve yorumlamak için kullanılan bilimsel bir disiplindir.

Gıda kalitesinin pek çok unsurunun ölçümü gelişmiş enstrümanlara rağmen duyusal panellerle ölçülmektedir.

Çünkü;

- 1) Bugün pek çok enstrümental analiz kullanan kişi anlam taşıyan sonuçların ancak entrümental ve duyusal analizlerle birleşmesi ile elde edilebileceğini fark etmiş,
- 2) Entrümental analiz tayin sınırında hiçbir sinyal yok iken, biyolojik dedektörümüz, bir koku tat algılayabilir,



3) Ayrıca enstrümental cihazlar tek bir komponenti analiz yaparken, duyularımız aynı anda birkaç özelliği algılayabilir.

A-Objektif metotlarla yapılan analizler:

1- Kimyasal ve biyokimyasal metotlar

2- Fizikokimyasal metotlar

3- Mikroskopik yöntemler

4- Fiziksel özelliklerin incelendiği yöntemler

5-Görünüş ve renk analizleri

6-Geometrik özelliklerin belirlenmesi

7- Tekstür analizleri

3- Mikroskopik yöntemler: Bir gıda maddesinin mikroskopik yapısının belirlenmesinde çok çeşitli mikroskop ve mikroskopik teknikler kullanılır.



a) Taramalı (scanning) Elektron Mikr.

b)Geçirmeli (transmission) Elektron Mikr.

Elektron mikroskopunun prensibi; yüksek voltaj altında hızlandırılmış elektronlar bir numune üzerine gönderilirse, elektronlar ile numune atomları arasında çeşitli etkileşimler olur ve numuneden değişik enerjide elektronlar ve x-ışınları çıkar.

5- Görünüş ve renk analizleri: Bir gıda maddesinin kalitesi onun sahip olduğu renk ile doğrudan ilişkilidir. Bu özellik çeşitli enstrümental cihazlar kullanılarak belirlenebileceği gibi duyusal yöntemlerle de saptanabilir.

Enstrümental gıda analiz metotları şu şekilde de gruplandırılabilir:

- Spektroskopi
 - Moleküler Spektroskopi
 - Atomik Spektroskopi
 - Polarimetri
- Refraktometri
- Kromatografi
 - Sıvı Kromatografisi
 - Gaz Kromatografisi
 - Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC)
 - Kağıt Kromatografisi
- Potansiyometri

Gıda analizlerinde enstrümental analiz yöntemlerinden fotometrik analiz yöntemleri tercih edilir. Çözeltilerin ışığı absorbe (soğurma) etme, ışığı geçirme veya kırma gibi özelliklerinin ölçülmesi esasına dayanan yöntemlere fotometrik yöntemler denir.

Bu analiz yöntemlerinde şunlar yapılır:

- Analiz edilecek örnek çözelti haline getirildikten sonra üzerine belli bir kimyasal ilave edilir.
- Böylece elde edilen sistemin ışığı absorbe etme, ışığı çevirme veya ışığı kırma dereceleri ölçülür.
- Ölçüm değerleri aynı koşullarda hazırlanmış ve içerisine belli miktarda madde bulunan bir standart seri ile karşılaştırılarak sonuca gidilir.
- Fotometrik analiz yöntemlerinin en büyük avantajı seri çalışmaya ve çok az madde miktarlarının bile belirlenmesine imkân sağlamasıdır.

Başlıca fotometrik analiz yöntemleri şunlardır:

- REFRAKTOMETRİ
- TÜRBİDOMETRİ
- SPEKTROFOTOMETRİ
- KOLORİMETRİ
- FLUOROMETRİ

Enstrümental analizlerde ön hazırlıklar

- 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.

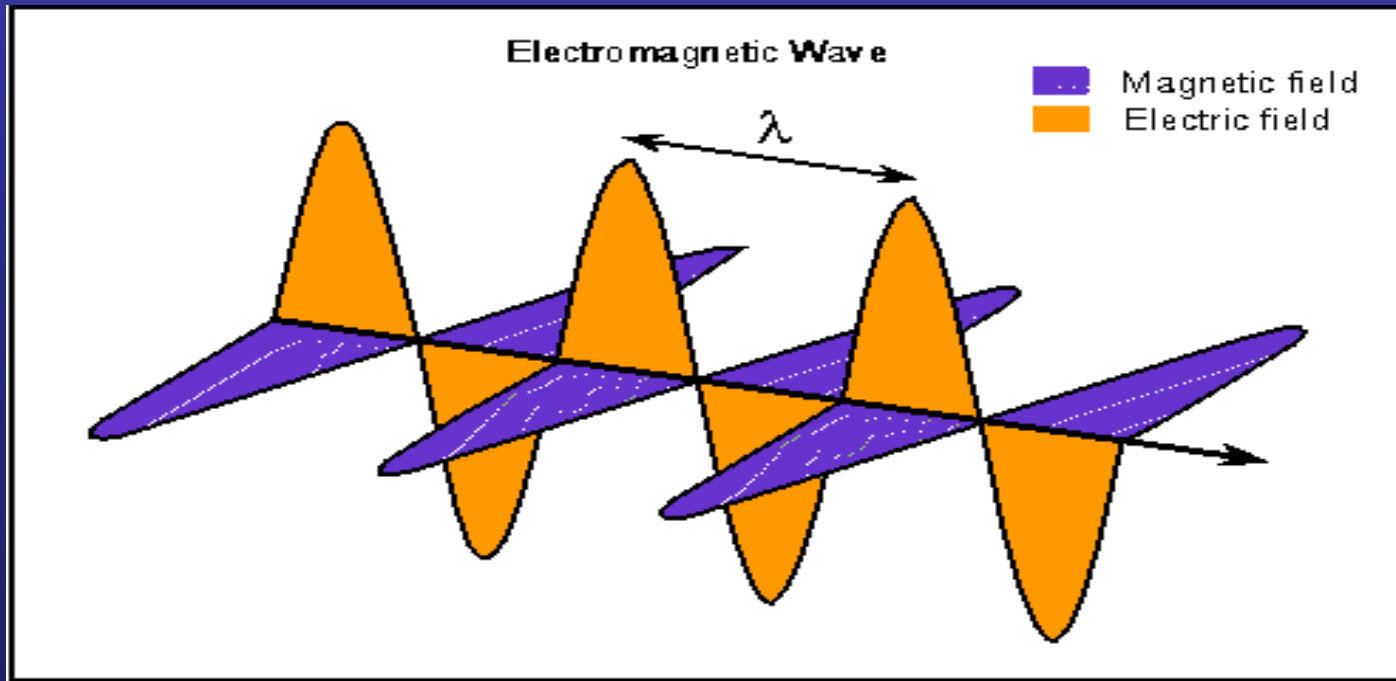
SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLERE GİRİŞ

Spektroskopi ile İlgili Terimler

Bir örnekteki atom, molekül veya iyonlardaki elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının, ölçülmesi ve yorumlanmasına spektroskopi denir.

Atom, molekül veya iyonun elektromanyetik ışıma ile etkileşimi sonucu dönme, titreşim ve elektronik enerji seviyelerinde değişiklikler spektroskopinin temelini oluşturur.

Işın veya elektromanyetik dalga uzayda çok büyük hızla hareket eden bir enerjidir. Diğer enerjilerde olduğu gibi bu enerjinin de çeşitli şekilleri vardır. En çok bilinenleri ışık, ısı, radyo dalgaları ve X –ışınlarıdır. Bu enerjilerden gözle görülebileni sadece ışıktır. Işının uzaydaki hareketi dalgalar halinde olur. Işığın manyetik ve elektriksel iki bileşeni (alanı) bulunur. Bu iki bileşen birbirine dik konumdadır.

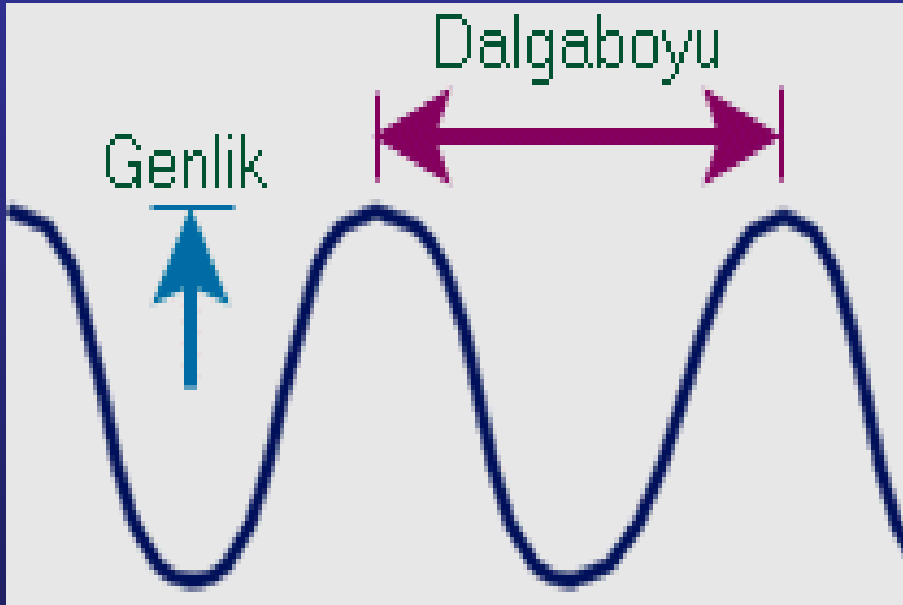


IŞININ DALGA KARAKTERİ

Kırılma veya kırınım olayları ile anlaşılır. Dalga karakterinin sonucu, ışında şu özellikler görülür:

1- Dalga boyu, 2- Genlik, 3- Periyod, 4- Frekans, 5- Işık hızı, 6- Kırınım

1. Dalga boyu (λ): Bir ışının dalga hareketinin ard arda gelen iki maksimumu veya minimumları arasındaki doğrusal uzaklıktır ve λ ile gösterilir.



Dalga boyu metre (m), santimetre (cm), milimetre (mm), mikrometre (μm), nanometre (nm), angström (Å) gibi çeşitli birimlerle verilebilir.

$$1 \text{ cm} = 10 \text{ mm} = 10^4 \mu\text{m} = 10^7 \text{ nm} = 10^8 \text{ Å}$$

2. Genlik : Bir dalgada maksimumun yüksekliği veya minimumun derinliğidir.

3. Periyod : Dalga hareketinin ard arda gelen iki maksimumunun sabit bir noktadan geçmesi için gerekli zamandır ve “p” ile gösterilir.

4. Frekans (ν): Bir ışının saniyedeki periyot sayısı olup birimi s^{-1} veya buna eşdeğer Hertz (Hz) dir.

$$\nu = 1 / \lambda$$

5. Işık Hızı (c): Işının havadaki yayılma hızıdır. Her çeşit ışının vakumdaki hızı aynıdır ve c ile gösterilir.

Frekans, dalga boyu ve ışının yayılma hızı arasında,

$$c = \lambda \cdot \nu = 3 \times 10^{10} \text{ cm/s şeklinde bağıntısı vardır.}$$

6. Işının Kırınımı: Işın dalgaları bazı şartlarda birbirini etkilerler. Bazı durumlarda dalgalar birbirini söndürürken bazen güçlendirirler.

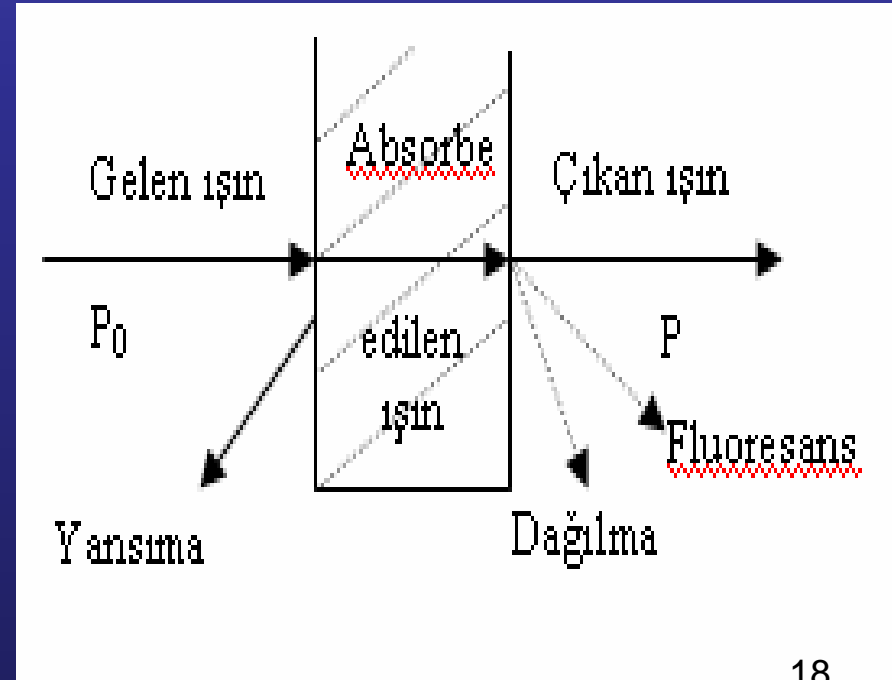
Işının tanecik karakteri

Bir ışın demeti pek çok sayıda tanecikten meydana gelmiştir.

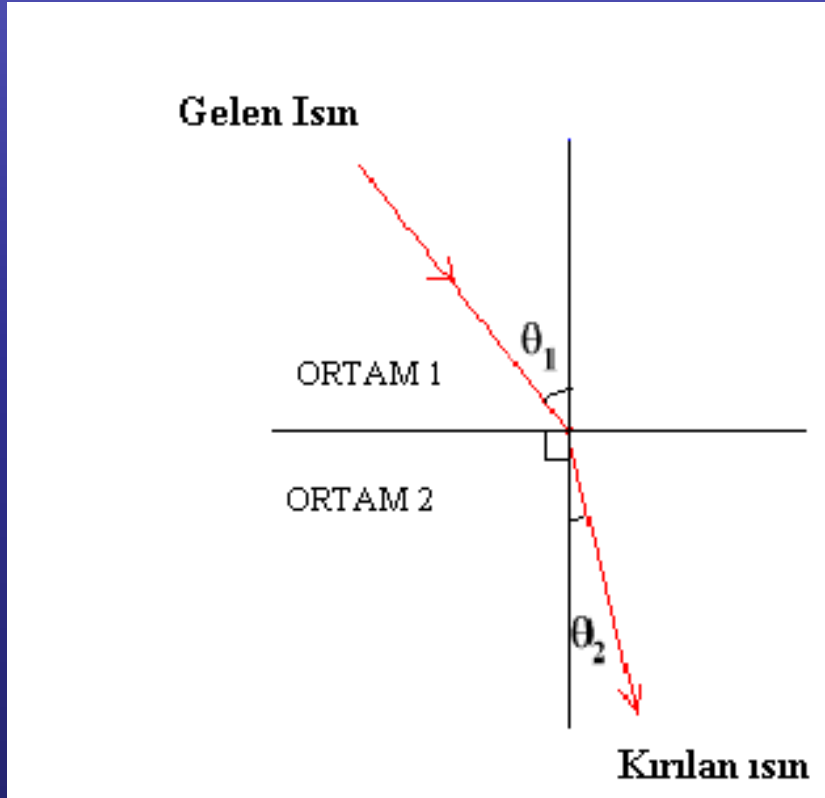
MADDE VE IŞIN ETKİLEŞMESİ

Spektroskopinin konusu radyant enerji ve madde arasındaki ilişkidir. Bir ışın demeti vakumdan maddenin yüzeyine giriş yaptığında, ışının elektriksel vektörü ortamın atom veya molekülleri ile etkileşir. Işının madde ile etkileşmesi sonucu başlıca şu olaylar meydana gelir;

- Işının geçmesi veya kırılması
- Işının dispersiyonu
- Işının yansımaları
- Işının dağılması
- Işının raman saçılması
- Işının polarizasyonu
- Işının absorplanması



a) Işığın geçmesi veya kırılması: Işın şeffaf maddelerden geçer. Bu geçme esnasında, ışının madde içindeki hızı, normal hızına göre daha düşüktür.



SNELL YASASI: $n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2$

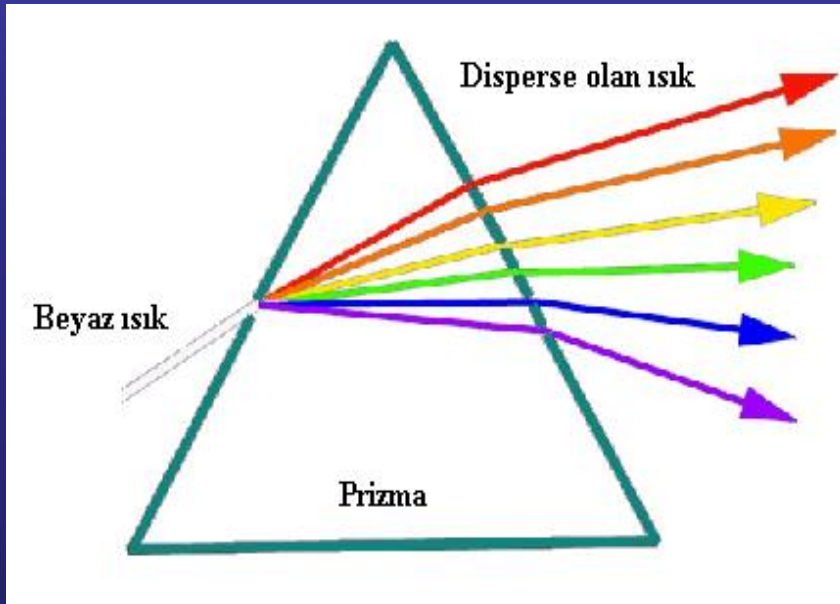
Soru: Havadan suya gelen bir ışık normale 60°'lik açı yapmaktadır. Suyu giren bu ışık normale kaç derecelik bir açı yaparak kırılmaya uğrar?

BAZI MADDELERİN KIRILMA İNDİSLERİ

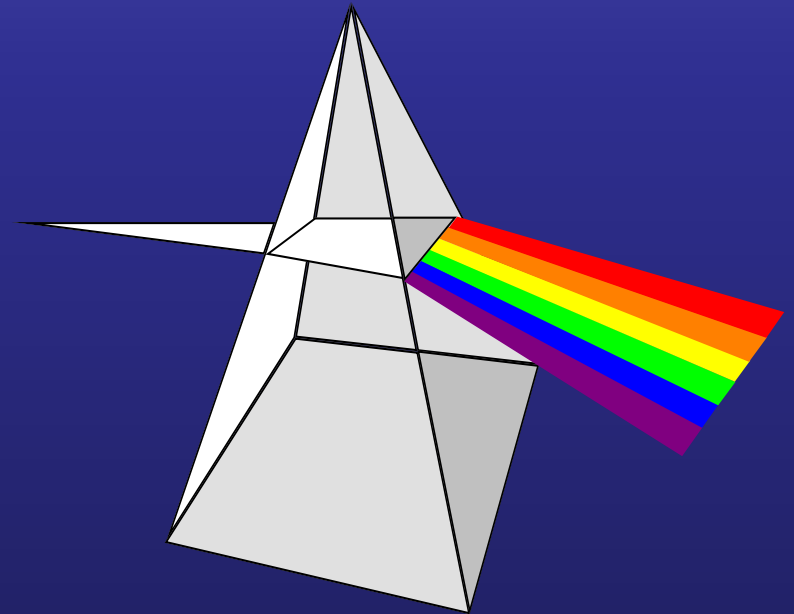
Madde	Kırılma (kırınım indisi)
Hava	1.00
Su	1.33
Etil alkol	1.36
Gliserin	1.47
Cam	1.50

b) Işığın dispersiyonu: Bir maddenin kırma indisinin içinden geçen ışığın dalga boyu ve frekansına göre değişmesine ışığın dispersiyonu denir.

1- Normal dispersiyon



2- Anormal dispersiyon



c) Işının yansımasi: Işın bir ortamdan diğesine geçerken yansır.

d) Işının absorplanması: Çeşitli dalga boylarında ışın içeren bir demet, şeffaf bir ortamdan geçirilirse, içinden bazı dalga boylarının kaybolduğu görülür. Buna ışının absorplanması denir.

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.

$$\Delta E = h \cdot \nu$$

2. Moleküler Spektroskopi

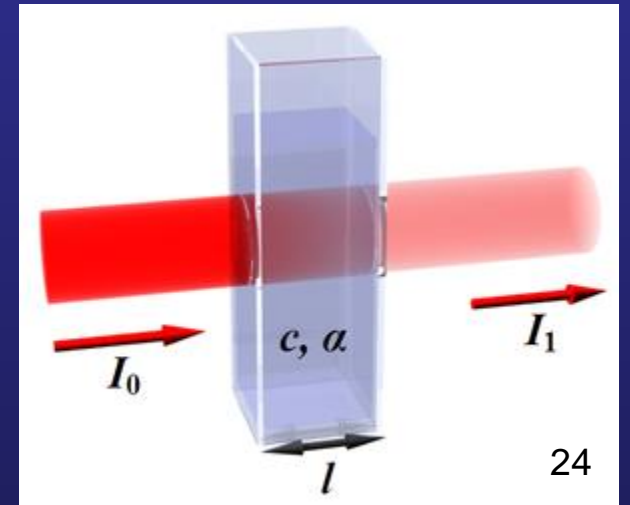
Moleküler spektrum, elektronik düzeyler arasındaki geçişlere ek olarak dönme ve titreşim enerji düzeyleri arasındaki geçişleri de içerir. Bu geçişler sırasında bir molekülün toplam enerjisi şu eşitlikle verilir:

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

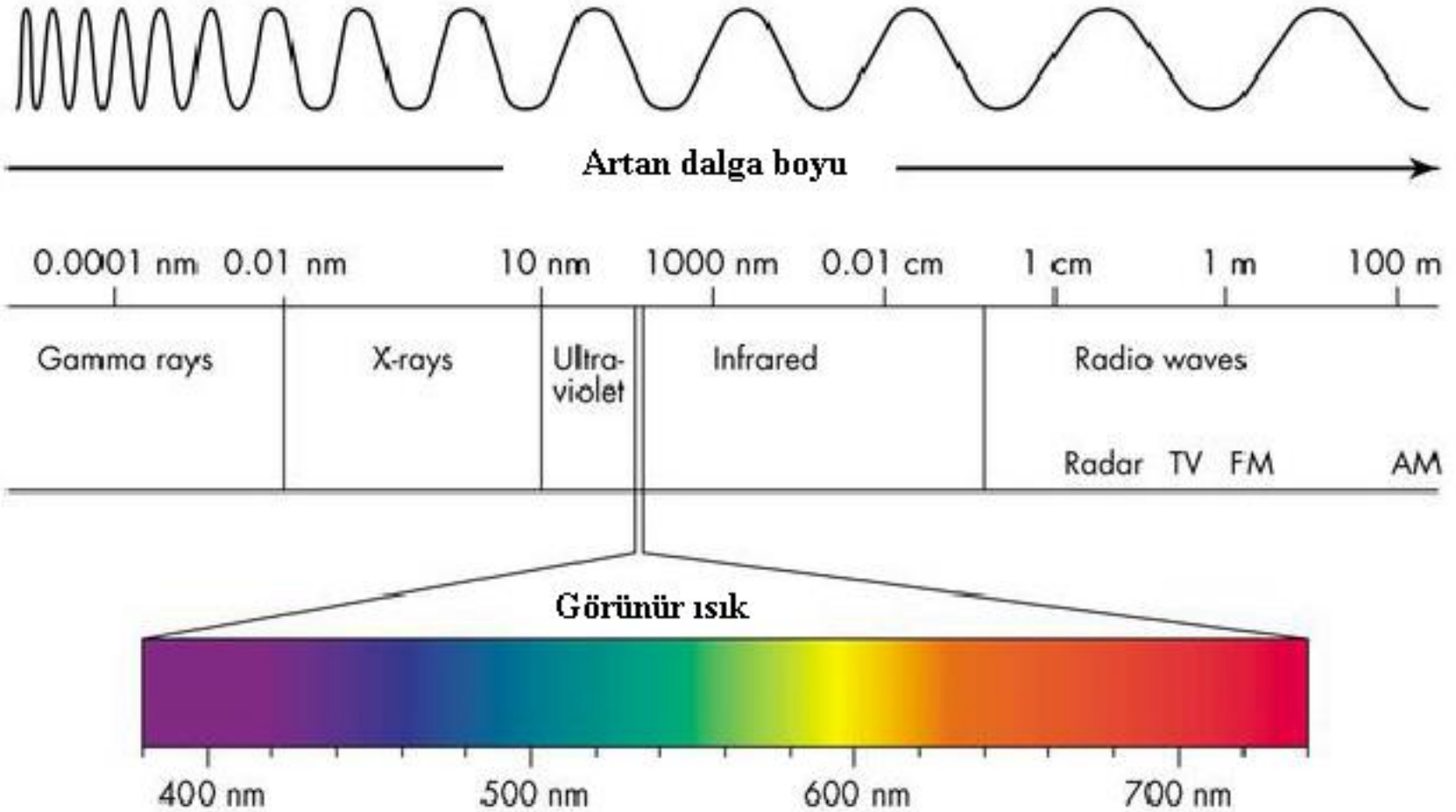
ABSORPSİYON KANUNLARI

Beer Kanunu: Aynı derinlikte bir çözültiden geçen ve çözülti tarafından absorplanan monokromatik bir ışın demetinin şiddeti çözültünün konsantrasyonu ile logaritmik veya üstel veya geometrik olarak azalır.

Lambert Kanunu: Bir çözültiden geçen monokromatik ışın demetinin şiddeti, çözültünün derinliğiyle (çözülti içinde aldığı yol) logaritmik veya üstel veya geometrik olarak azalır.

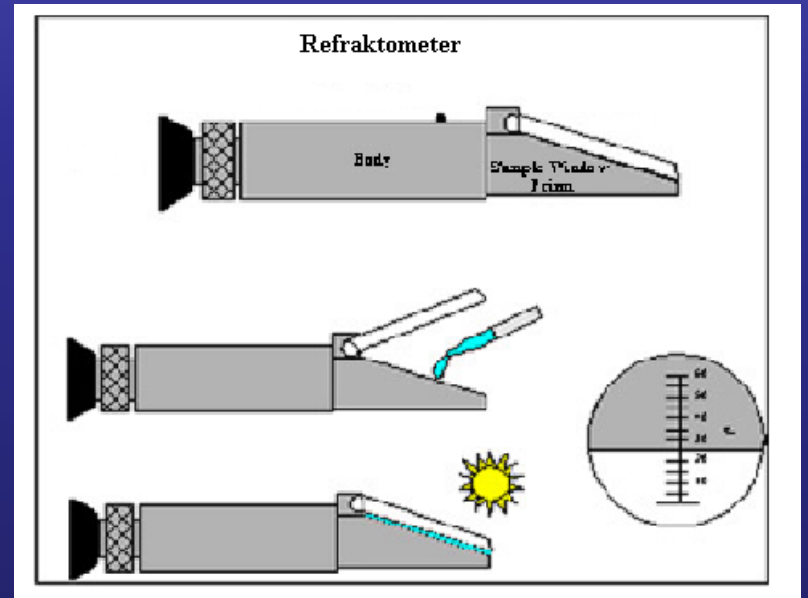


ELEKTRO MANYETİK SPEKTRUM

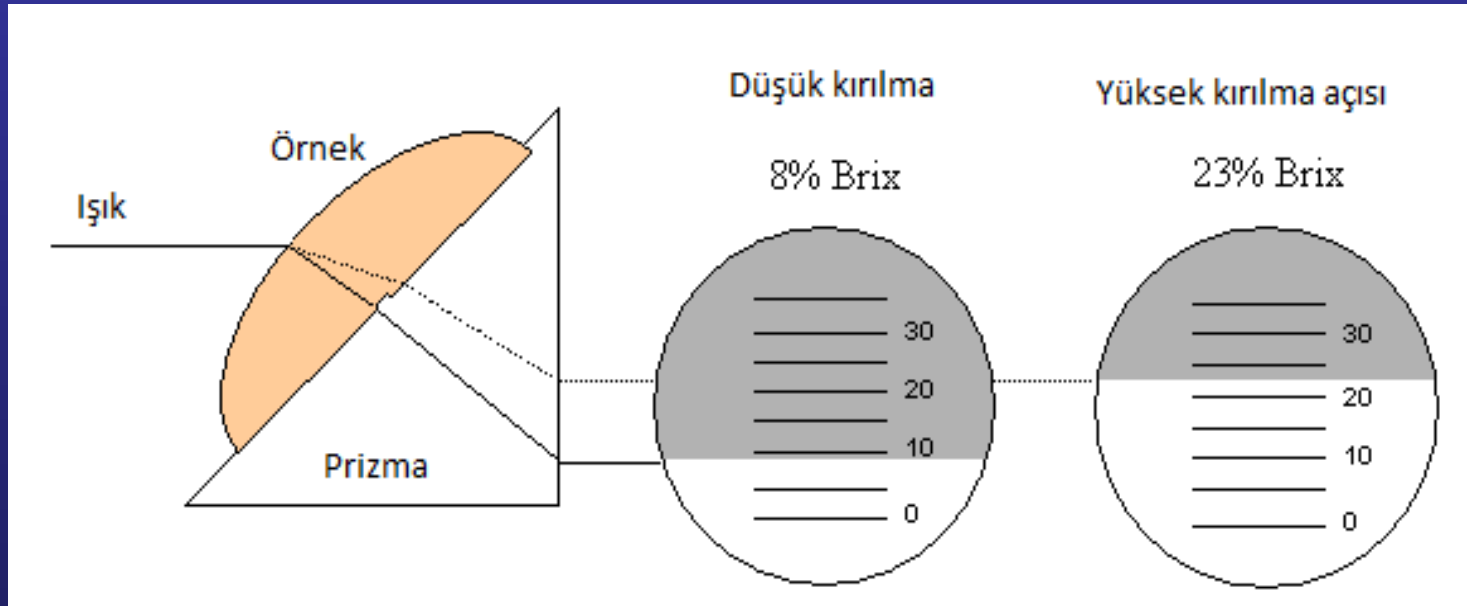


REFRAKTOMETRİ

Tanım olarak refraktometre, maddenin ışını kırma özelliğinden yararlanan enstrümental analiz yöntemlerinden birisidir.



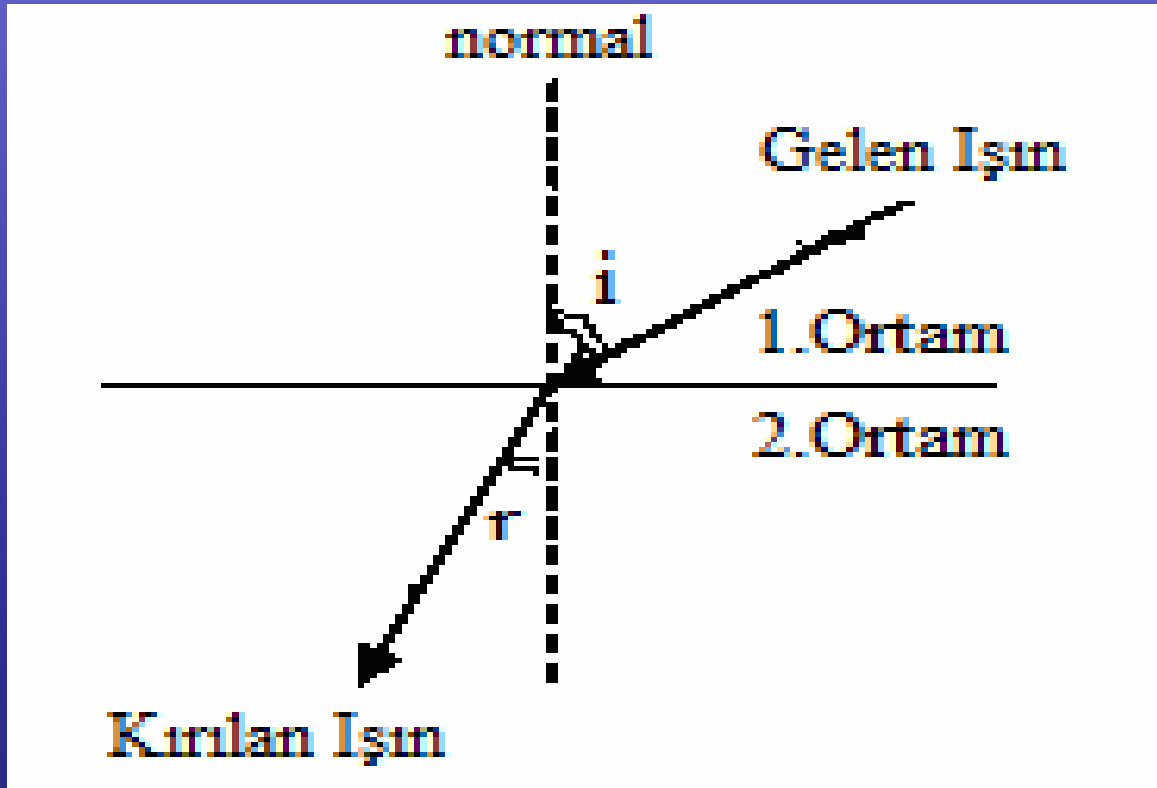
"Refraktometri", her ortamın kırılma indisinin farklı olması prensibini kullanarak, konsantrasyon ve madde miktarı gibi tayinleri yapmaya yarayan bir yöntemdir. Kırılma indisi her maddeye özgü bir fiziksel özelliktir, bu sebeple kalitatif ve kantitatif analizlerde kullanabileceğimiz bir metottur.



Saydam bir ortamdan gelen bir ışının diğer bir saydam ortama geçerken doğrultusunu değiştirmesine **ışığın kırılması** denir. Bir ortamın kırılma indisi, ışığın boşluktaki hızının bu ortama giren ışık demetinin düşey düzlem ile meydana getirdiği havada ve bu ortamdaki açılarının sinüslerinin oranı olarak ölçülür. Gelme açısının sinüsünün kırılma açısının sinüsüne oranına “**kırılma indisi**” denir.

Bir ortamın kırılma indisine **n**, elektromanyetik ışımının vakumdaki hızına **c**, elektromanyetik ışımının bu ortamdaki hızına da **v** dersek, şöyle bir bağıntı elde edilir:

$$n = c / v$$



Işığın kırılması

Işının bir ortama geliş açısına **i**, yansıma açısına da **r** dersek
eğer, Snell Yasasına Göre şöyle bir bağıntı yazılabilir:

$$\sin i / \sin r = v_1 / v_2 = n_2 / n_1$$

v₁: Işının 1. ortamdaki hızı

v₂: Işının 2. ortamdaki hızı

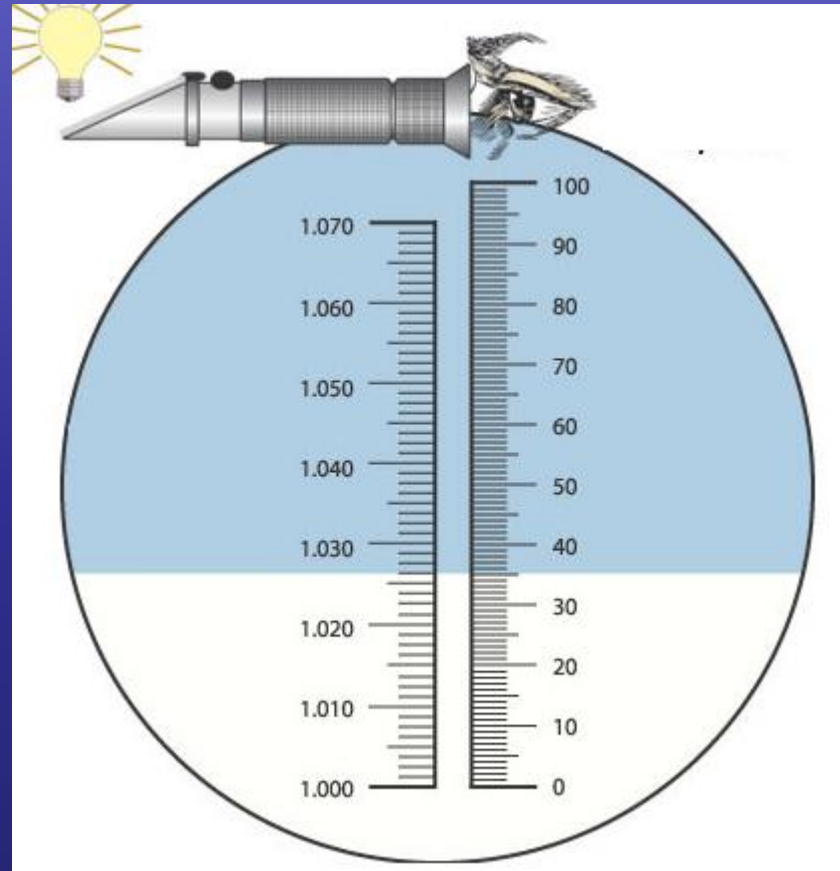
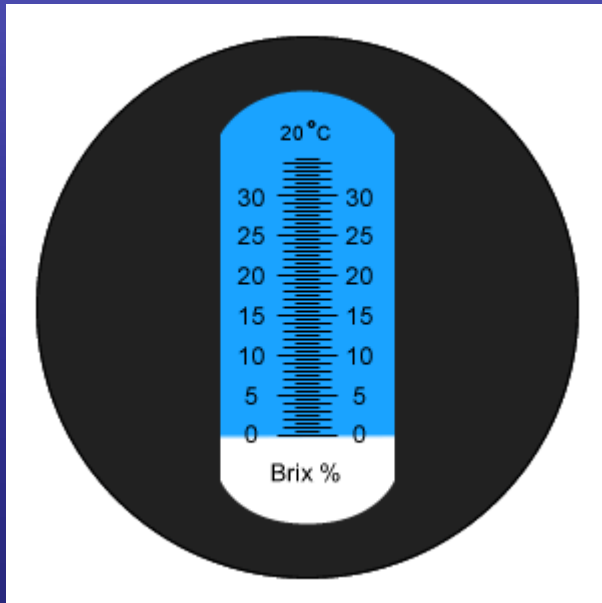
n₁: 1. ortamın indisi

n₂: 2. ortamın indisi

Refraktometri kullanım alanları

Enstrümental gıda analizlerinde kırılma indisinin kullanıldığı pek çok alan bulunmaktadır. Genel olarak bir madde içerisinde, ışığın belli açılara bağlı olarak kırılmasından yani kırılma indisinden yararlanılarak, bir çok kimyasal madde ve gıdanın kontrolü veya maddelerin saflığı kontrol edilebilmektedir.

Kırılma (refraktif) indisinin ölçülmesi: Kırılma indisi genellikle havaya göre belirlenir.



Kırılma indisini etkileyen faktörler

Ortamın sıcaklığı: Ortamın sıcaklığı, katı cisimler üzerinde fazla etkili değildir.

Kullanılan ışığın dalga boyu (λ): RI ölçümlerinde kullanılan ışığın dalga boyu küçüldükçe, kırılma indisi de artar.

Konsantrasyon: Işının bir maddeden diğer maddeye geçerken gösterdiği kırılma indisi, konsantrasyona bağlı olarak değişir.

Atmosfer basıncı: Kırılma basıncı atmosfer basıncıyla da değişebilmektedir. Atmosfer basıncı arttıkça, genellikle kırılma indisi de artar.

Refraktometre Çeşitleri

Refraktometreler, katı (Abbe tip modellerde) veya sıvılarda katı madde miktarı, kırılma indisi, şeker miktarı, refraktif indeks ve briks (Brix) aralıklarını ölçme amacıyla kullanılan cihazlardır.

Piyasada gıda, kimya, ilaç vb. alanlarda kullanılmaktadır. Özellikle de gıda alanında şarap, meşrubat, reçel, bal, meyve suları,

Yemeklik yağlar gibi birçok üretim alanında kullanılmaktadır.

Örneğin, çözünebilir yağlar ve yemeklik yağların kırılma indisleri ölçülerek, bunların saflık dereceleri ve acılık dereceleri tespit

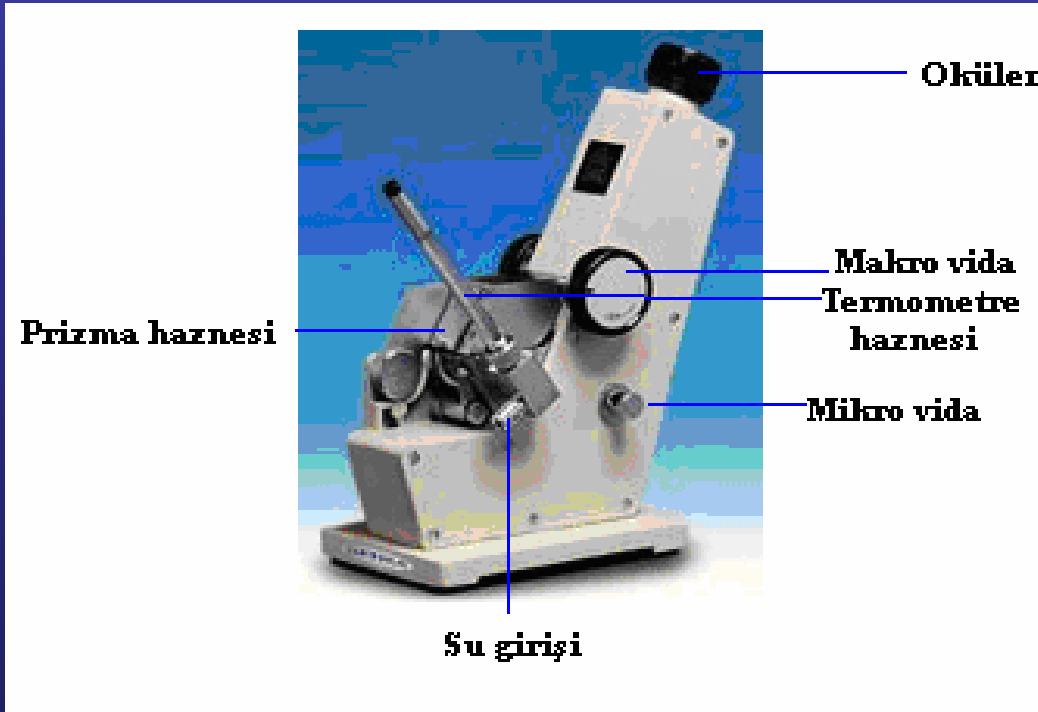
edilebilmektedir (Bir sıvı yağın acılaşıma derecesi artıkça kırılma indisi de artar).

Refraktometre çeşitleri şunlardır:

- Abbe refraktometreleri (Dijital ve manuel)
- El refraktometreleri (Dürbün ve Dijital)
- Sıcaklık ayarlamalı dijital refraktometreler

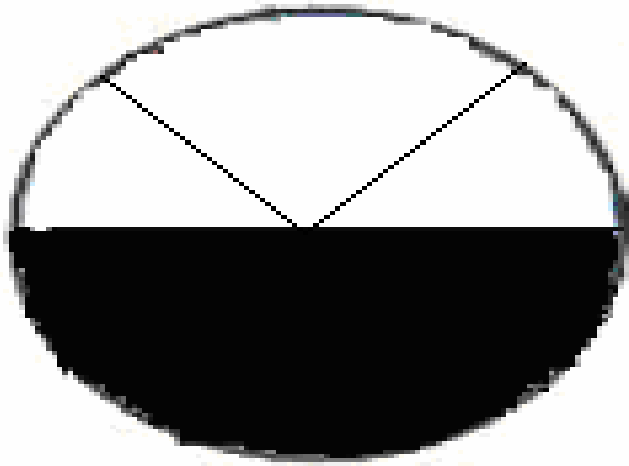
1. Abbe refraktometresi

En yaygın olarak kullanılan refraktometre'dir. Kritik açı ölçümü prensibini kullanan bu aletlerde, sıvı haldeki örnek, iki prizma arasına yerleştirilir ve kalibre edilmiş dürbününden gözle okuma yapılır.

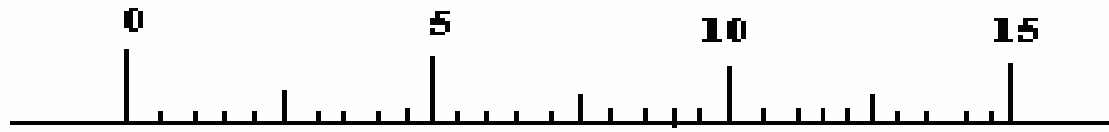


Manuel abbe refraktometresi

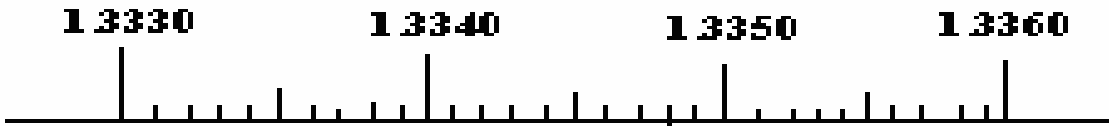




Okuma yaparken karanlık ve aydınlık sahanın netleştirilmesi ve çakıştırılması



% Değişim skalası



Kırılma indisi skalası

Refraktometredeki skalalar

ABBE refraktometresinin üstünlükleri;

ABBE Refraktometre oldukça doğru ve hızlı sonuç verdiği için rutin kontroller için endüstride en fazla kullanılan cihazlardan birisidir.



ABBE refraktometre çeşitleri



Traditional Abbe Refractometer

User obtains reading by lining up crosshairs, and reading graduations in the view. Note the external thermometer and the ports for circulating water.



Digital Display Abbe Refractometer

User still has to line up the crosshairs in the eyepiece, but the reading is displayed on the digital readout. Thermometer is now internal, but waterbath is still required for accurate measurements.



Multi-Wavelength Abbe Refractometer

Operates on same principles as Digital Display Abbe, but fitted with additional components with which to measure at different wavelengths. Also calculates Abbe number automatically. Waterbath still necessary for accuracy.

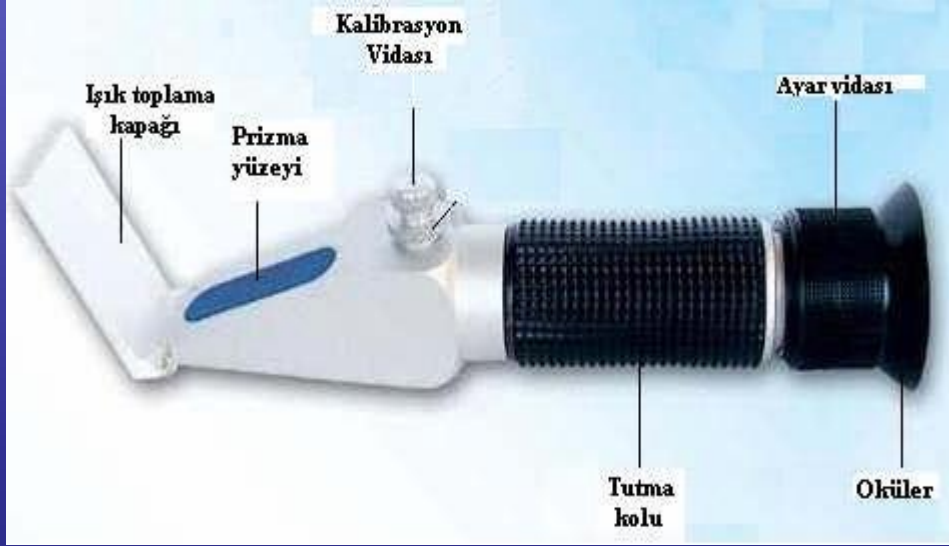


Modern Digital Laboratory Refractometer

Circulating water is no longer required for temperature control. The "crosshair" display is also replaced by push-buttons. Accuracy is increased to 5th or sometimes 6th decimal place of refractive index. Can link to a printer for hard copy or computer for remote operation.

2. El Refraktometreleri

El Tipi Refraktometreler kolay ölçüm olanağı sağlayan refraktometrelerdir. Pratik uygulamalarda, küçük hacimli, hafif olması nedeniyle meyve suyu, süt, salça, reçel gibi çeşitli gıda endüstrilerinde rahatlıkla kullanılan, sıvı solüsyonların kırılma indislerini, % kuru madde miktarları ile Brix aralıklarını ölçen cihazdır.



Dürbün tipi el refraktometresi

3. Dijital Refraktometreler

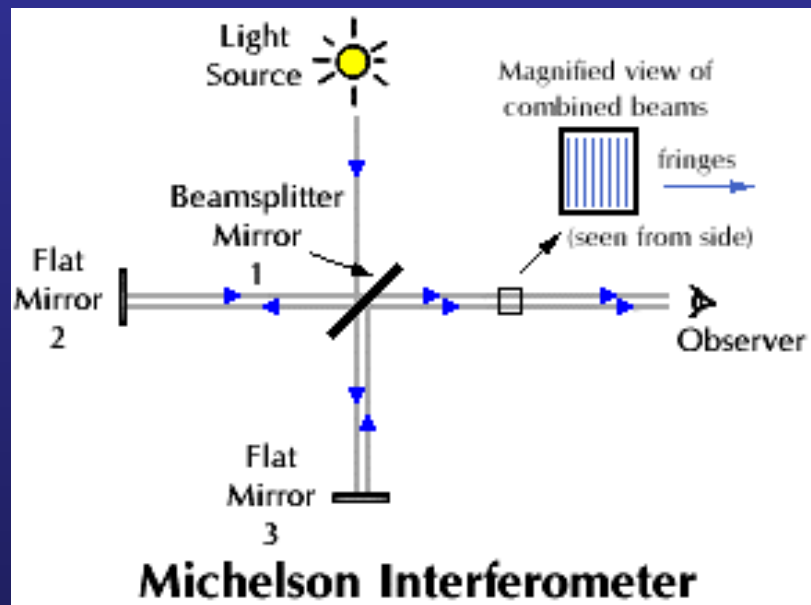
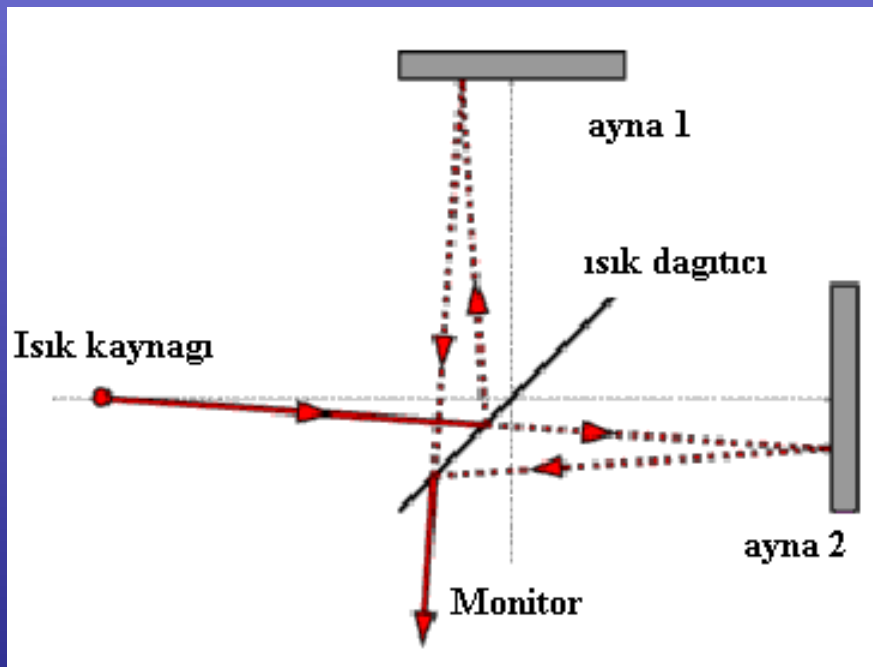
Basit ölçüm yöntemiyle kullanım kolaylığı sağlayan, yüksek hassasiyetli, güvenilir ölçümler için tasarlanmış refraktometrelerdir. Bu refraktometrelerde ölçüm sonuçlarının kolay okunabilmesini sağlayan dijital okuma alanı bulunmaktadır.



Dijital el refraktometreleri

İNTERFEROMETRİ

Refraktometrede ışığın madde içerisindeki kırılma açısından, interferometredeyse ışığın madde içerisindeki meydana getirdiği kırınım ağlarından yararlanır.

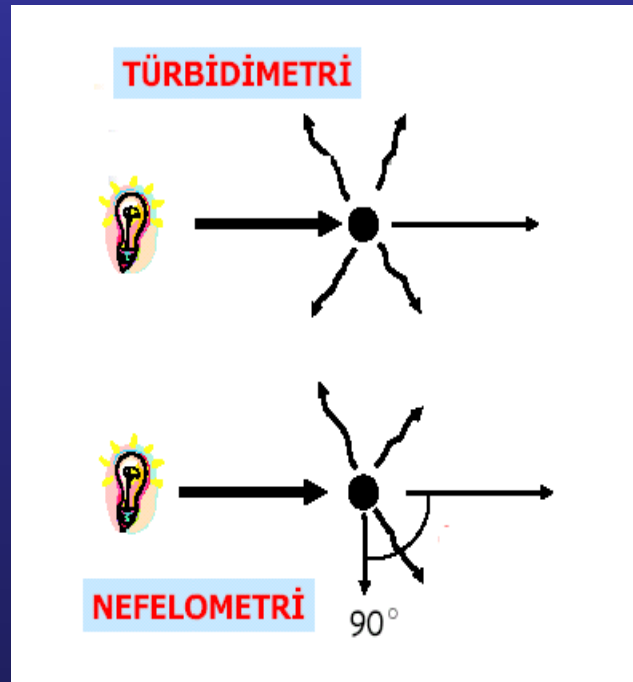


İnterferometrelerin uygulama alanları;

- su analizlerinde
- havadaki CO₂ tayininde
- gıdalarda adsorpsiyon ölçümlerinde
- kömür ocakları atmosferinde CH₄ tayininde.

TÜRBİDİMETRİ ve NEFELOMETRİ

Bir ışın demetinin bulanık bir çözültiden geçmesi sonucu şiddetindeki azalmadan yararlanan metoda türbidimetri, aynı ışın demetinin geliş doğrultusuna dik yönde dağıtılan kısmından yararlanan metoda ise nefelometri denir.





Taneciklerin özelliğine çeşitli faktörler etki yapmaktadır:

- konsantrasyon
- sıcaklık
- karıştırma hızı
- yabancı maddeler
- bekletme zamanı