

# ***TÜRBİDİMETRİ-NEFOLOMETRİ VE RAMAN SPEKTROSKOPİSİ***

# TÜRBİDİMETRİ VE NEFELOMETRİ

Bulanıklığın ölçümü esasına dayanan yöntemlerdir.

**Türbidimetri**, çözeltiye gelen ışık şiddetinde, çözeltideki partiküllerin neden olduğu saçılmadan dolayı ortaya çıkan ışık kaybının ölçüldüğü metottur (Tyndall etkisi). Protein yapısındaki maddelerin ölçümünde kullanılır. Değişik yöntemlerde proteinler denatüre edilerek çözünürlükleri ortadan kaldırılır; bulanıklık oluşturulur ve bu ölçülür.



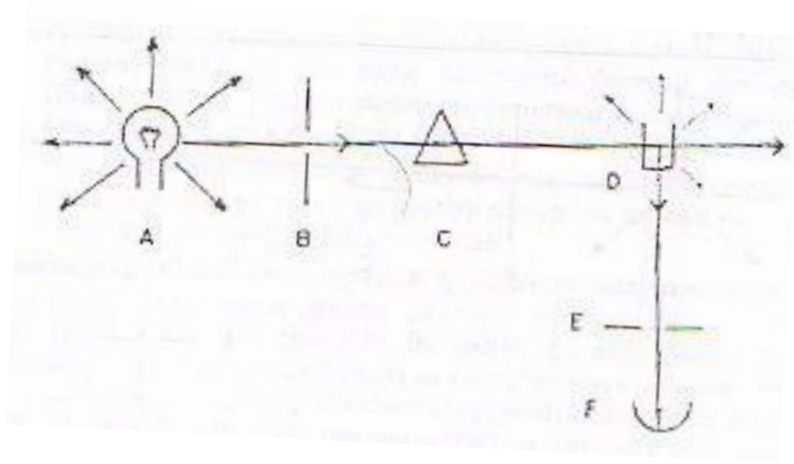
**Nefelometri**, çözeltideki partiküllerce geliş eksenine göre 90° açıyla yerleştirilmiş olan fotosele doğru saptırılan ışımaların ölçüldüğü metottur. Çeşitli açılarda saçılan ışımları ölçen farklı tip **nefelometreler** vardır.

Spektrofotometreler nefelometri için kullanılamaz.

# TÜRBİDİMETRİ VE NEFELOMETRİ

**Tyndall etkisi:** Işımanın kolloidal veya bir süspansiyon içindeki  $\mu\text{m}$  çapındaki küçük parçacıklardan saçılmasıdır. Rayleigh saçılmasına benzeyen bu durum nedeniyle mavi ışık kırmızı ışığa göre daha güçlü bir şekilde saçılıma uğrar. Tyndall etkisi altında uzun dalga boyu daha çok geçirilir, kısa dalga boyu ise saçılım ile daha çok yansıtılır.





Nefelometre

Işın kaynağı olarak lazer yada Hg lambası gibi monokromatik bir kaynak tercih edilir (özellikle mavi ışın, daha çok saçılıma uğrar).

Işın, slitten geçirilerek bir mercek (sürekli ışınan bir monokromatör) yardımıyla toplanarak ışın demeti, örneğe gönderilir.

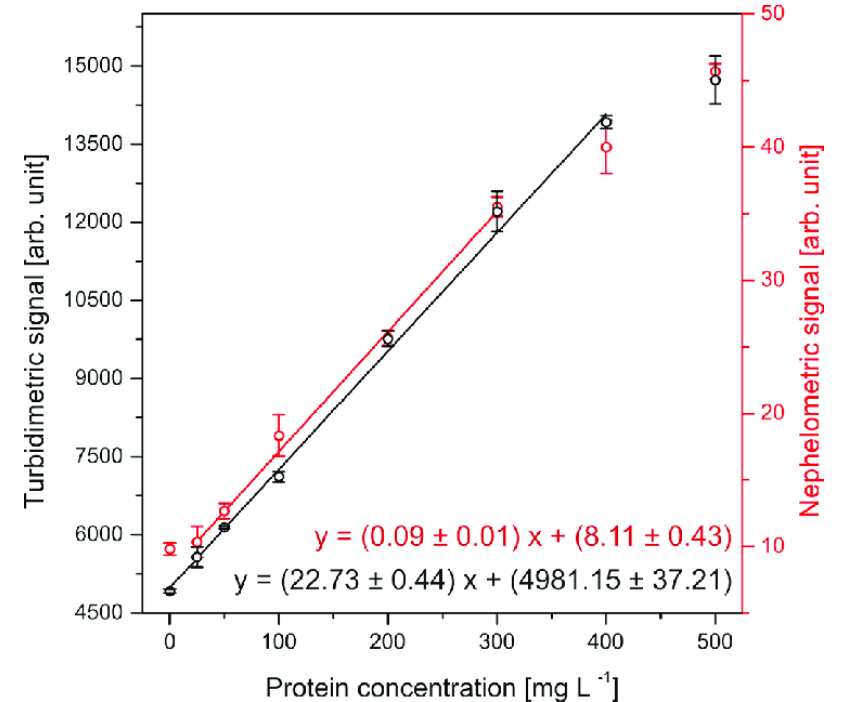
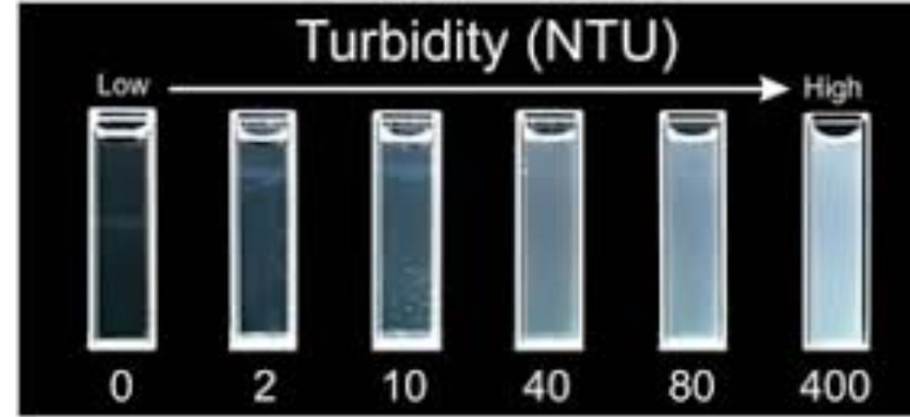
Türbidimetre



# Kantitatif analiz

Kantitatif analiz, nefelometrik turbidite birimi (NTU) olarak standartlaştırılmış örneklerden elde edilen kalibrasyon grafiği yardımıyla yapılır. Saçılan ışığın miktarı konsantrasyon kadar parçacıkların büyüklüğü ve şekline de sahip olduğundan, NTU gibi bir standart tercih edilmektedir.

Diğer bir analiz şekli ise derişimi bilinen standartlar yardımıyla kalibrasyon grafiğinin hazırlanmasıdır. Örneğin, proteinlerin ölçümü.



# Raman Spektroskopisi

Bir örneğin, genellikle GB veya yakın IR bölge monokromatik ışımadan oluşan güçlü bir kaynakla ışınlanması sonucunda saçılan ışımının, belirli bir açıyla ölçümüne dayanır. Türbidimetri ve nefelometriden farklı olarak saçılan ışının sadece şiddeti değil aynı zamanda enerjisi de ölçülür.

Saçılan ışımının büyük bir kısmının enerjisi madde ile etkileşen ışımının enerjisine eşit olur ve bu tür elastik saçılma olayına **Rayleigh saçılması** denir.

Elastik saçılma olayının yanı sıra gerçekleşen elastik olmayan saçılma olayı ise **Raman saçılması** adını alır.

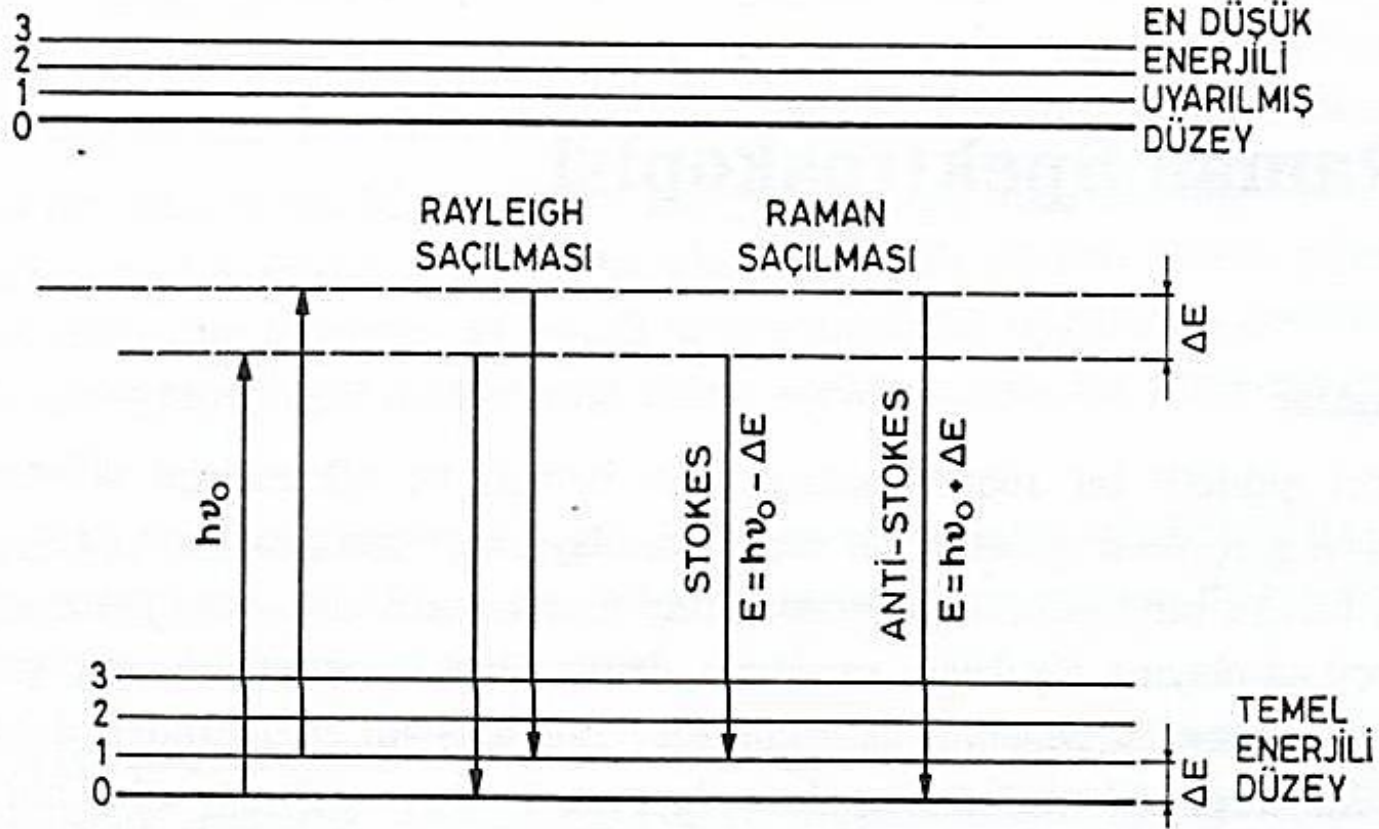
Rayleigh saçılması olayında Raman saçılmasına göre  $10^4 - 10^5$  kez daha şiddetli bir saçılmış ışıma oluşur.

Raman saçılması sırasında saçılan ışımının enerjisinde (molekül ile etkileşen ışımınınkine göre) oluşan fark (fazlalık veya azlık), ışıma ile etkileşen molekülün titreşim enerji düzeyleri arasındaki enerji farkları kadardır.

Raman saçılmasının spektroskopik incelenmesi ile moleküllerin titreşim enerji düzeyleri hakkında bilgi edinilebilir.

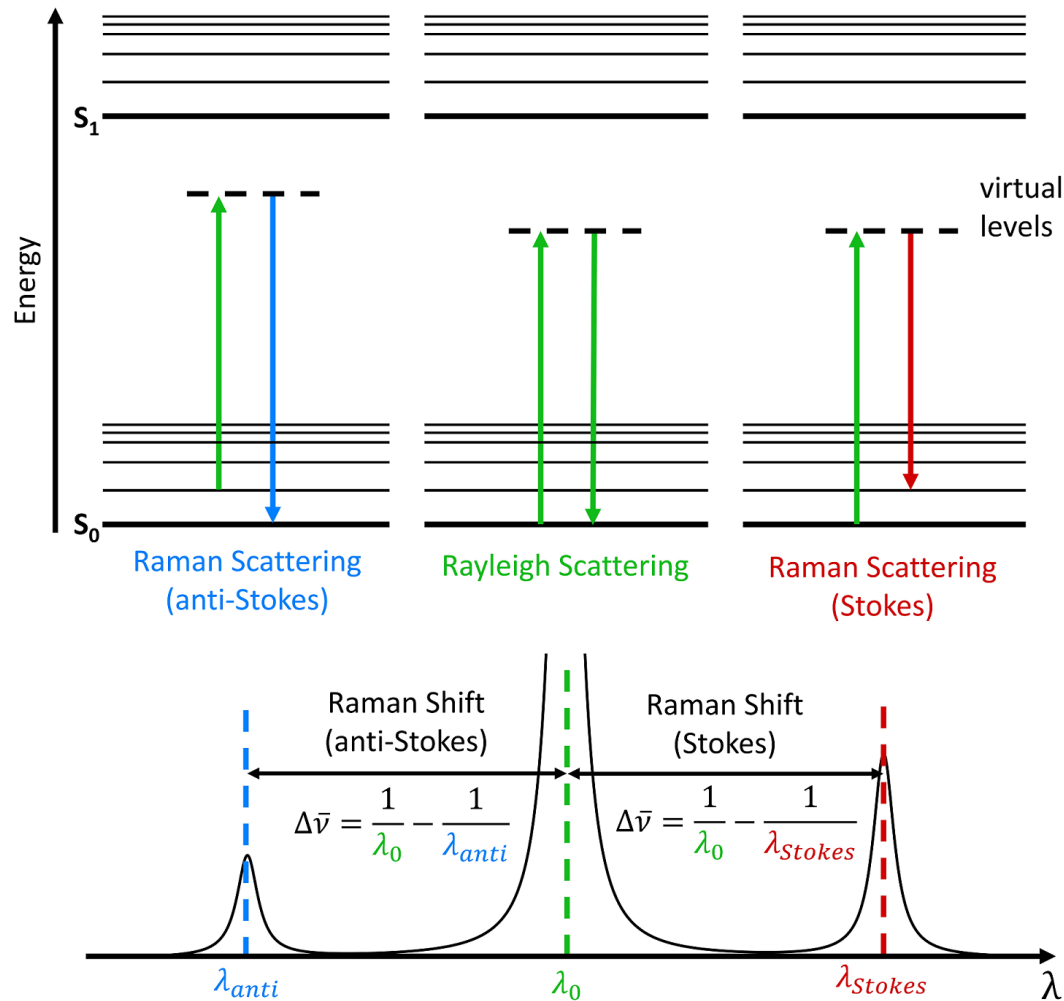
Bu yöntem **Raman spektroskopisi** adını alır.

Raman spektroskopisi inorganik, organik ve biyolojik sistemlerin kalitatif ve kantitatif analizine uygulanır.

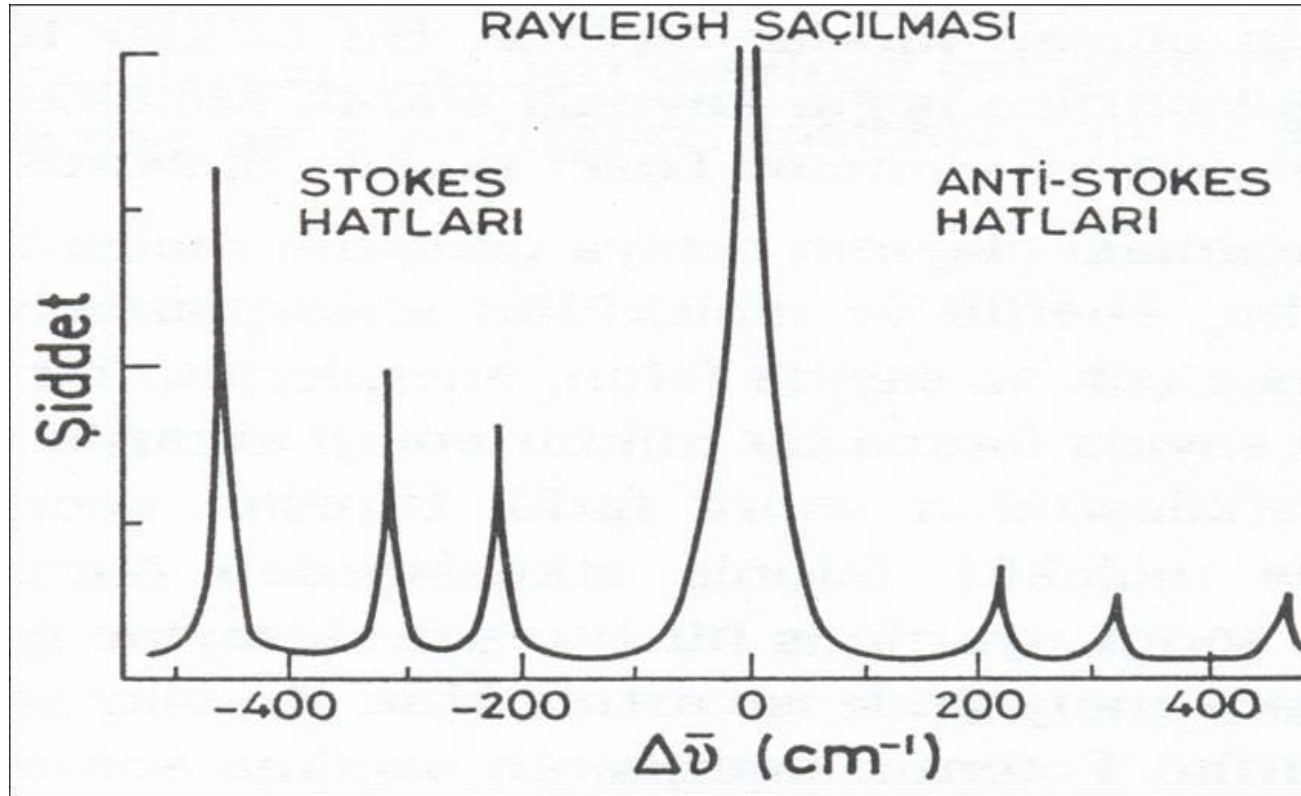


Stokes ve anti-Stokes türü Raman saçılması olaylarının molekül enerji diyagramı ile açıklanması.

Raman spektroskopisi inorganik, organik ve biyolojik sistemlerin kalitatif ve kantitatif analizine uygulanır.

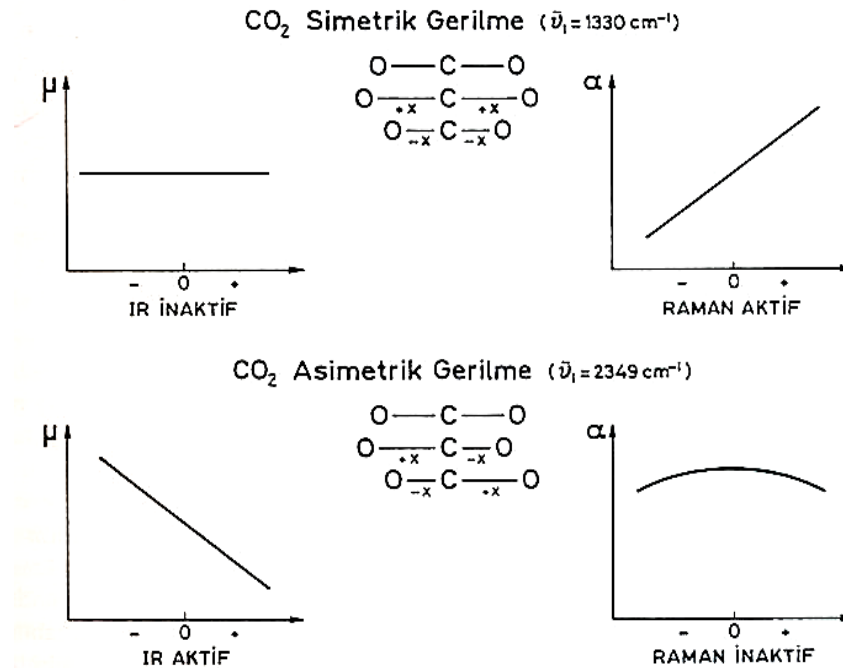


- (i) Stokes türü saçılma hatları Rayleigh hattına göre daha negatif  $\Delta\nu$  değerlerinde,
- (ii) anti-Stokes türü saçılma hatları ise pozitif  $\Delta\nu$  değerlerinde gözlenir.



Bir molekülün bir fotonla Raman türü saçılma etkileşmesine girebilmesi için periyodik ve geçici bir dipol momentinin oluşması gereklidir.

Raman hatlarının şiddeti, titreşen molekülün fotonla etkileşirken oluşan polarlanabilme değişim hızının karesi ile orantılıdır.



Şekil. CO<sub>2</sub> molekülünün simetrik ve asimetrik gerilme ve eğilme titreşimleri sırasında molekülün dipol momentinde ( $\mu$ ) ve polarlanabilmesinde ( $\alpha$ ) oluşan değişimler

Simetri merkezi bulunan moleküllerde,

Tam simetrik titreşimler (simetrik gerilme gibi)

**IR inaktif , Raman aktif**

Simetrik olmayan titreşimler (asimetrik gerilme gibi)

**IR aktif , Raman inaktif**

\*Bir molekülün Raman kaymaları ve IR bantları aynı enerji değerlerinde gözleniyorsa, yani her iki spektrumda hatların ve bantların bir kısmı birbiri ile çakışıyorsa, molekülün simetri merkezi yok demektir.

**IR ve Raman spektroskopisi yöntemleri içerdikleri bilgi açısından birbirini tamamlayan yöntemlerdir.**

Floresans özelliğine sahip moleküllere Raman spektroskopisinin uygulanabilmesi için Stokes hatları yerine anti-Stokes hatlarının ölçülmesi gerekir.

Bir moleküle ait anti-Stokes hattı o molekülün floresans bandından daha büyük frekanslardadır ve bunlar birbirleri ile örtüşmez.

## **Raman spektrofotometreleri**

### **Işıma kaynağı : Genellikle Lazer**

Lazer (L.A.S.E.R.), zorlanmış emisyon ile ışık çoğaltılması anlamına gelen "Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation" sözcüklerinin baş harflerinden türetilmiş bir kısaltmadır.

Lazer olarak katı hal lazeri; yakut kristali (esas olarak  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ten oluşmuştur, %0,05 oranında Cr(III) içerir) ve Nd:YAG (İtriyum ve Alüminyum lal taşı (garnet) ana kristalinde Neodiyum iyonları içerir) lazeri kullanılır

#### Gaz lazerler

He/Ne,  $\text{Ar}^+$  veya  $\text{Kr}^+$  iyon lazerler,  $\text{CO}_2$  veya  $\text{N}_2$  ortamlı lazerler, eksimer lazerler(He, F ile Ar veya Xe gazlarından birinin karışımı ile elde edilir.)

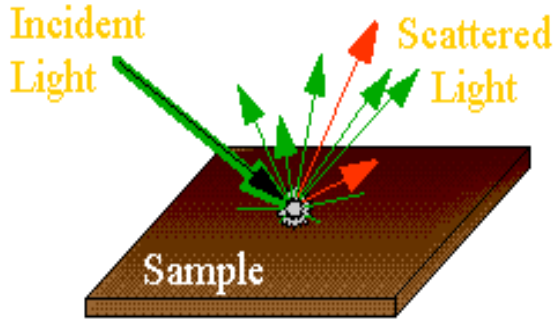
Boyar madde lazerler

Yarı iletken diyod lazerler

## Örnek ışınlama sistemi (Örnek Bölmesi)

Cam malzeme kullanılabilir.

Lazer kaynağı, örneğin küçük bir alanına kolayca odaklanabilir.



Sıvı ve katı numuneler az miktarda bile kolayca analiz edilir.

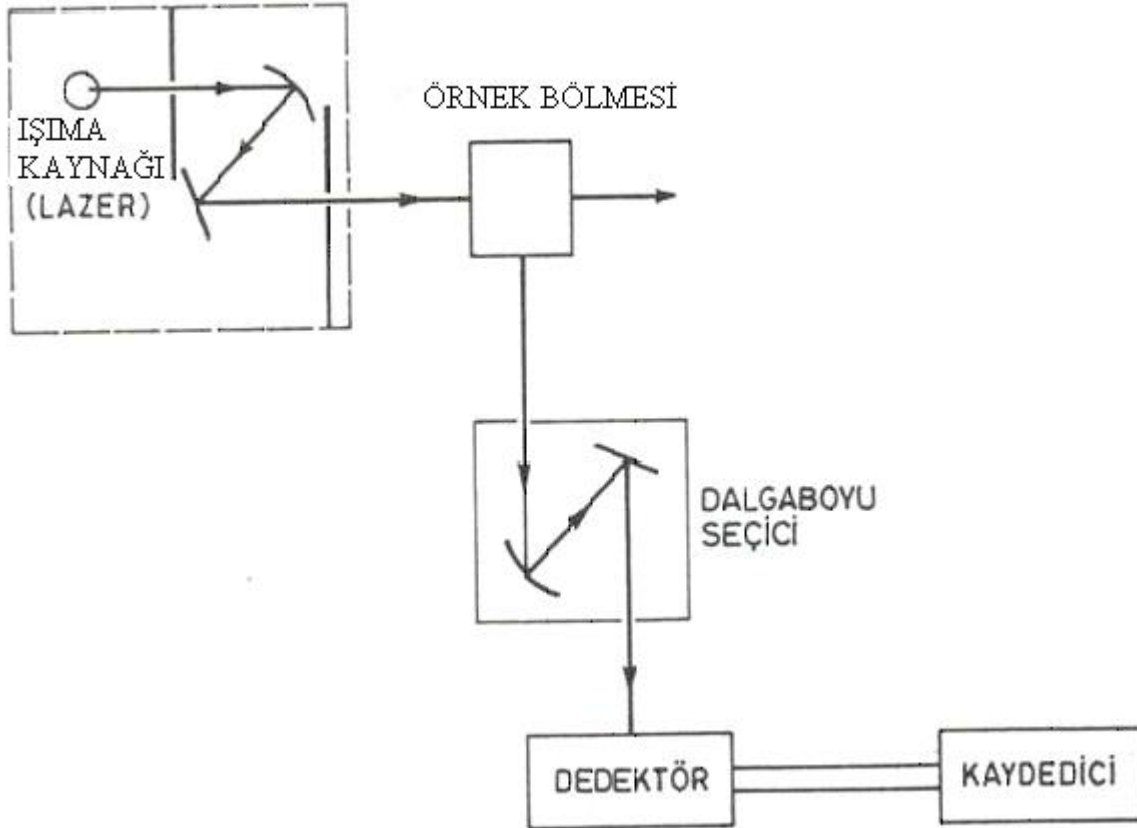
Sulu çözeltiler de Raman spektroskopisiyle analiz edilebilir.

## Monokromatör (Lazer kullanılmadığı durumda)

Optik ağ kullanılır.

## Dedektör

Fotoçoğaltıcı tüp veya CCD(Yük-eşleşmiş dedektör) dedektör kullanılır.



Raman Spektrometresi

## Analitik Uygulamalar

Raman spektroskopisi yöntemi ile daha çok nitel analiz yapılır.

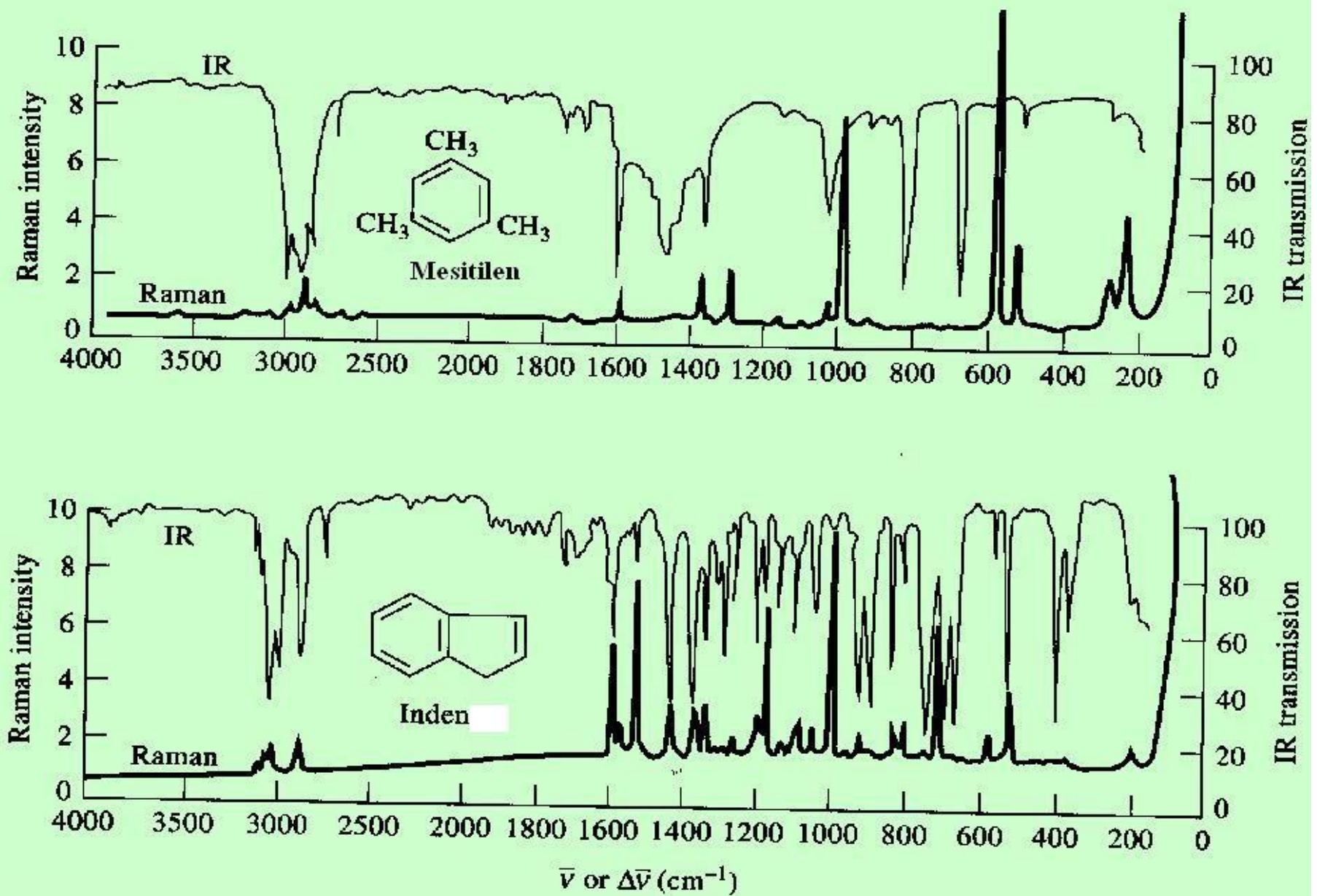
Moleküllerin yapısında bulunan  $-C=C-$  ,  $-C\equiv C-$ ,  $-N=N-$ .  $-S-S-$ ,  $-C-O-C-$  türü titreşimler ile halkalı bileşiklerde gözlenen halka daralması-halka genişlemesi titreşimi oldukça şiddetli Raman hatlarının gözlenmesine yol açar.

İnfrared spektroskopisinde kullanılan  $CS_2$ ,  $CCl_4$ ,  $CHCl_3$  gibi organik çözücüler Raman spektroskopisinde de kullanılabilir.

Bu çözücülerin kendi Raman kaymaları değerlerinin bilinmektedir.

İnfrared spektroskopisinde çözücü olarak kullanılamayan su, Raman spektroskopisinde sıkça kullanılır.

Raman spektroskopisi yönteminin infrared spektroskopisi yöntemine göre bir başka üstünlüğü de aynı cihazla hem yakın infrared hem orta infrared, hem de uzak infrared bölgelerindeki bilgilerin elde edilebilmesidir.



Mesitylen ve inden'in IR ve Raman spektrumlarının karşılaştırılması