

DENEY RAPORU

DENEY ADI Alev Fotometrisi İle Na⁺ ve K⁺ Tayini (2 No'lu deney)

DENEY TARİHİ 21 Kasım 2003 Cuma

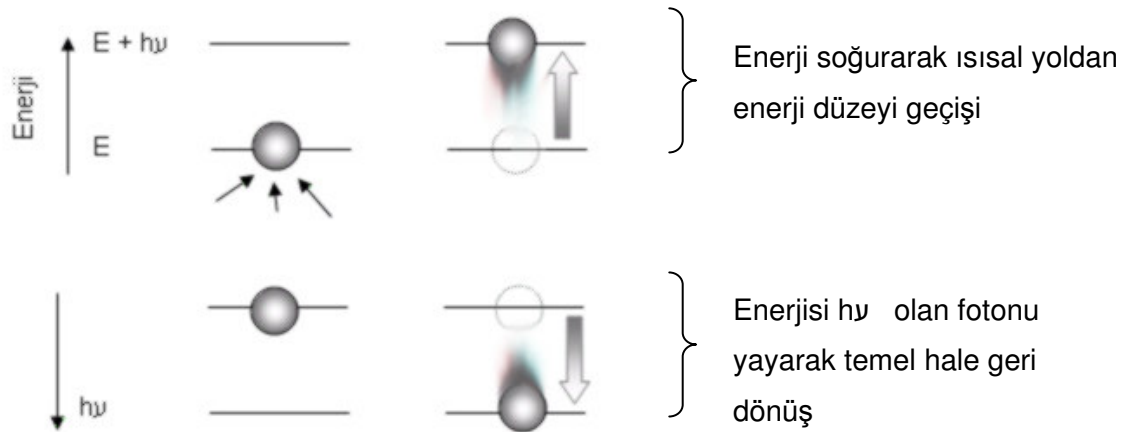
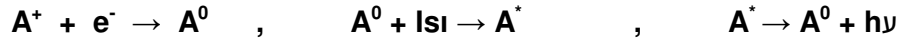
AMAÇ Alev Fotometresinin Temel İlkelerinin İncelenmesi ve Standart Katma Yöntemi İle Verilen Bir Örnekteki Na⁺ ve K⁺ Derişiminin Bulunması

TEORİK BİLGİ

Alev Fotometrisi

Biyolojik sıvılarda en çok sodyum, potasyum, lityum konsantrasyonlarının ölçümlerinde kullanılan bir yöntemdir. Flame Atomic Emission Spectroscopy **FAES** veya Flame Emission Spectroscopy **FES** diye adlandırılır.

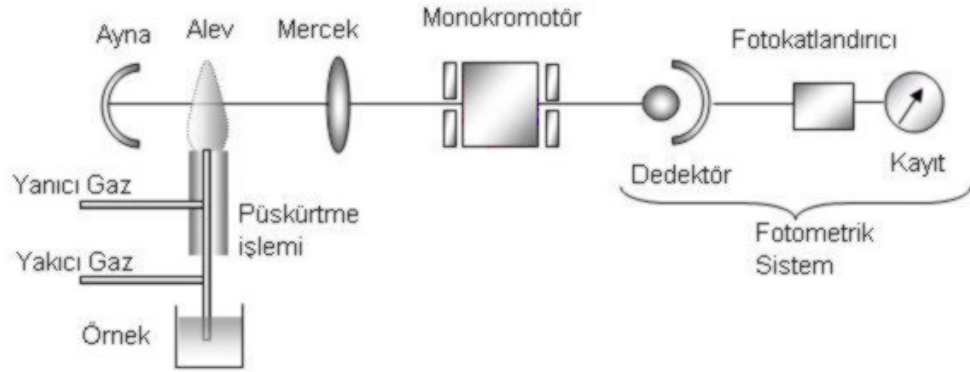
Temel ilkesi bazı metallerin atomları sıcak alev yoluyla verilen ısı enerjisini absorblayarak uyarılırlar ve bu enerjiyi belirli dalga boylarında yaptıkları ışımaya ile geri verirler ve temel hale dönerler. AAS'nin tersi bir yöntemdir. Alev fotometrisinde iyonların reaksiyonu şöyledir.



Alkali metalleri bir alev ile uyarılmaya uygundur. Lityum kırmızı bir emisyon yayar. Dalga boyu 671 nm'ye karşılık gelir. Sodyum sarı bir emisyon yayar. Dalga boyu 589 nm'ye karşılık gelir. Bu renkler ve dalga boyu her atom için karakteristiktir. Bundan iki yönde faydalanılabilir.

1- Emisyon frekansını ölçerek atomun türünü belirleyebiliriz.

2- Emisyon şiddetini ölçerek o atomun incelenen materyaldeki konsantrasyonunu belirleyebiliriz. Alevdeki atomların %1-5 kadarı uyarılır. Bu miktar kantitasyon için yeterlidir. $I = k [A^+]$



Alev fotometresinin genel şeması

Teknik açıdan numunenin aleve verilmesi, (numune uygulanması) uygun alevin oluşturulması ve emisyonun ölçülmesi gibi basamaklar önemlidir.

Numune Uygulanması

Alev fotometrisi, atomun herhangi bir numunedeki konsantrasyonunu ölçmede kullanıldığından, numuneyi aleve veren sistemin, her zaman için sabit bir oranda vermesi gerekmektedir. Aksi takdirde salınan ışık ile atom konsantrasyonu arasında direkt bir ilişki kurulamaz. Normal alev fotometrisinde bu numune çözeltisini aleve püskürtmek yoluyla gerçekleştirilir. Çözücü alevin içinde anında buharlaşır. Atomlar da ince dağılımlı bir gaz olarak kalırlar.

İki tür enjektör kullanılmaktadır. Her ikisinde de numuneyi içeren kapiler bir borunun ucundan komprese edilmiş hava verilir. Hava kapiler borudan küçük sıvı damlacıklarını emer "aerosol" oluşturur.

1. Cloud Chamber(Toz Bulutu) sisteminde, spray, bir ekspansiyon(genişleme) odacığına verilir. Böylelikle kan numune basıncı ve akış hızı azalmıştır. Büyük damlacıklar aerosolden ayrılarak çöker ve de yavaş akan çok ince bir spray ateşleme sistemine aktarılır.

2. Direkt enjeksiyon sisteminde spray hemen hemen direkt olarak alevpüskürtülür. Birinci sistemin diğerine göre avantajları; Çok ince ve yavaş akan spray alevin stabilitesini bozmadır. Ayrıca operasyon sırasında sistem akustik yönden sessizdir. Dezavantajları; Alevde numunenin çok az bir miktarı uygulanmış olur.(%10). Ayrıca enjeksiyon ile alevde numunenin erişmesi arasında geçen zaman diğer sisteme göre daha fazla olduğundan numunenin uygulanışları arasında daha uzun zaman gerekmektedir.

Uygun Alevin Oluşturulması

Alev fotometrisinde alev son derece stabil olmalıdır. Zaman içinde alevin ısısı ya da yapısı değişecek olursa numunenin vereceği emisyonunda değişecektir. Alev hızlı iniş ıkışlar göstermemelidir. Alevin ısısı incelenecek atomları uyarabilecek kadar yüksek olmalıdır. Ne kadar yüksek olursa uyarılan atomların total atom sayısına oranı o kadar yüksek olacaktır. Ancak çok sıcak olursa uyarılma derecesi çok fazla olur ve elektronlar tümüyle atomdan koparılıp iyonizasyonla sonuçlanabilir.

Alev oluşturmada genel olarak propan, bütan, asetilen ve hidrojen yakıtları kullanılır. Hidrojen yakıt olarak kullanıldığında oksidan oksijen diğerlerinde havadır. Propan 1925 C için, Bütan 1840 C Na, Li ve K için, Asetilen 2250 C orta sıcaklıkta Ca ve emisyon analizlerinin çoğu için, Hidrojen 2700 C yüksek sıcaklık içindir.

Alevden Emisyonun llmesi

Alev reaksiyona giren gazların kompleks bir karışımıdır. Bu gazlar sıcak olduğundan numune olmadan da belli bir işıma yaparlar. Buna “background” denir. Numune tarafından yayılan radyasyon bu background ile çakışabilir. Aleve ait background’u ve incelediğimiz atom dışındaki atomlarca yayılan emisyonların elimine edilmesi gerekmektedir. Cihazın monokromotr ne kadar dar ise eliminasyon işlemi o kadar verimli olur. İyonik olmayan materyaller yakıldığında değişik dalga boylarında emisyon saptanır. Bu sürekli emisyondur ve bir elemente bağlı tek dalga boyunda çizgisel emisyondur. Bu nedenle dış ortama bağlı sürekli emisyonu ortadan kaldırıp elementin kendine ait çizgisel emisyon maksimumunu geçiren monokromotr idealdir.

Analiz Yöntemi

1-Direkt Okuma Yöntemi

Bazı eski modellerde sodyum ve potasyum standart zelteleri atomize edildikten sonra direkt olarak aleve verilirler. Daha sonra aynı Şekilde numune zelteleri seyreltilmiş olarak uygulanır. Bu yöntemin bazı sakıncaları vardır. Hava ve gaz basıncındaki hafif oynamalar cihazın okumasında dengesizlik yapabilir. Aynı seyreltmeler için ayrı okumalar gerekebilir. Ayrıca potasyuma ait sinyal numunesi sodyum içeriğine bağlı olarak Őiddetlenebilir. Bu olay karşılıklı uyarılma Şöyle gerçekleşebilir. Uyarılan bir sodyum atomu enerjisini potasyum atomuna transfer edebilir. Buna bağlı olarak daha çok potasyum atomu uyarılır ve işık emisyonu artar. İdeal olarak standartlardaki sodyum ve potasyum konsantrasyonları bilinmeyen numunedekine yakın olmalıdır.

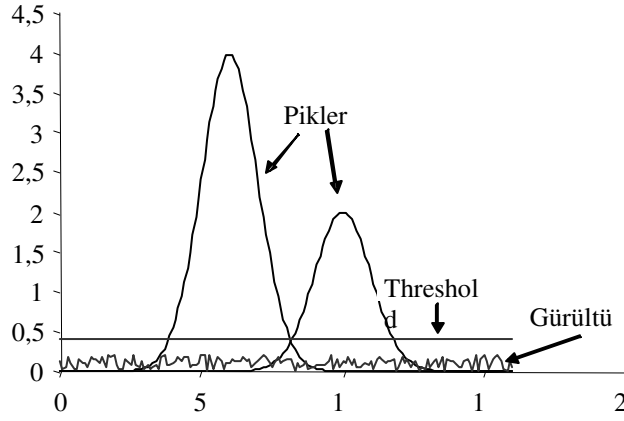
2-İndirekt Okuma Yöntemi (Internal Standart)

Bu yöntemde tüm standart, kör ve numunelere eşit konsantrasyonlarda lityum ve sezyum eklenir. Lityum yüksek emisyon şiddeti gösterir, normalde biyolojik sıvılarda mevcut değildir ve farklı dalga boyunda emisyon yapar. Alev Fotometresi incelenen elementin emisyonu ile referans lityum elementinin emisyonunu kıyaslamaktadır. Bu şekilde emisyon oranlarının ölçülmesi atomizasyon hızlarını, alev stabilitesini ve çözelti viskozitesine bağlı farklılıkları kompanse eder. Bu şartlarda lityum standart değil referans elementi olarak fonksiyon görmektedir. Lityum seyreltme çözeltisinde potasyum ve sodyumun değişik konsantrasyonlarda standart çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon eğrileri çizilir ve yanıtın linearitesi kontrol edilir. Lityumun bir başka fonksiyonu karşılıklı uyarılma olayının etkilerini minimuma indirerek bir tür radyasyon tamponu görevini yapar. Sodyum ve potasyuma göre lityum konsantrasyonu yüksek ayarlanmaktadır ve böylece sodyum atomlarının konsantrasyonu potasyum atomlarını etkilememekte, sodyuma ait radyasyonu absorblamaktadır.

Standart Katma Yöntemi ve Alev Fotometrisinde Uygulanması

Standart katma yönteminde analiz edilecek türün farklı derişimlerde standart çözeltileri hazırlanır. Analiz edilecek örnekten eşit hacimler alınarak örnek ve standart çözeltilere ilave edilir. Daha sonra derişimleri farklı standart çözeltilerin ve örneğin ölçümü yapılır. Bu sinyal absorbans veya emisyon olabilir. Standart katma yönteminde örnek çözeltisi, sadece örneğe ait ölçüm sonucunu verir. Standartlara ait alınan ölçüm ise hem incelenen örneğe hem de ilave edilen standarta ait ölçüm sonucunu vermektedir. Ölçümler ile derişimler arasında kalibrasyon grafiği çizildiğinde standart derişiminin "0" olduğu ölçüm değeri örneğe ait ölçüm değeridir. Bu değer kalibrasyon grafiğinin denkleminde eğim değeri ve eğrinin y eksenini kestiği nokta kullanılarak hesaplanabilir. Standart katma yönteminde, standart çözeltilerin derişimleri ile ölçümler arası kalibrasyon grafiği çizilerek hesaplama yapılabileceği gibi, standart çözeltilere standardı bilinen stok çözeltilerden ilave edilen hacim ile ölçümler arası kalibrasyon grafiği çizilerek de hesaplama yapılabilir. Ancak çıkan sonuç direkt olarak derişimi vermez. Bu sonuç hacimdir ve stoktan standart çözeltiler ilave edilen hacimlere benzer. Aralarında oranlama yapılarak veya formülle derişime dönüştürülür. Standart katma yönteminde sinyal alındıktan sonra güvenilir ve doğru sonuç için hesaplamalar önemlidir. Sonuca **belirsizlik değerinin** ilave edilmesi gerekir.

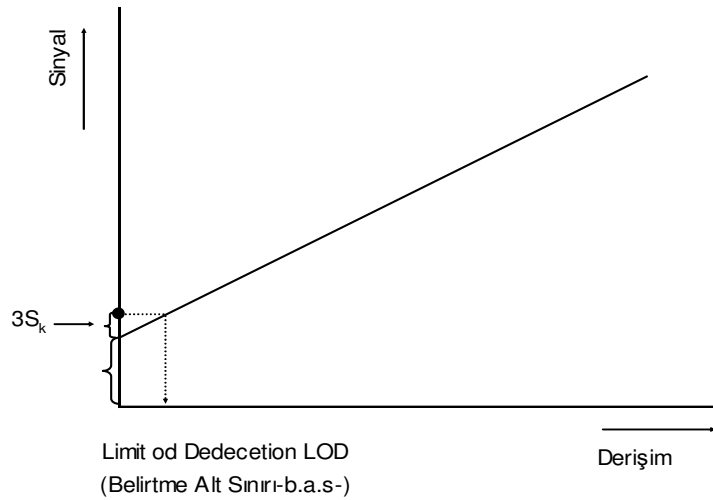
Analizlerde Doğruluk ve Standart Katma Yönteminin Önemi



Kimyasal analizlerde alınan her sinyalde belli bir gürültü olur. Bir ölçümün minimum tayin edilebilir miktarı vardır. Okunabilecek en küçük miktar kör sinyallerin standart sapmasının 3 katı olmak zorundadır.

$$x_{\bar{o}} = \bar{x} + 3S_k \Rightarrow x_{\bar{o}} - \bar{x}_k = 3S_k \quad x_{\bar{o}} = mC + \bar{x}_k \quad \frac{3S_k}{m} = \frac{x_{\bar{o}} - \bar{x}_k}{m} = C_{bas}$$

Limit of Dedection LOD veya belirtme alt sınırı olarak tanımlanan (b.a.s) değeri cihazın duyarlılığını gösterir.



Kör çözeltiler incelenen A türü hariç hepsini içeren çözeltilerdir. Yapılan ölçümlere örnekte bulunan tüm maddeler artırıcı veya azaltıcı etki yapacağı için kör ile çalışılarak bu etkiler elimine edilir.

Standart katma yönteminin **en önemli özelliği** işte bu özelliktir. Çözeltiler ve standartların aynı ortamı içeriyor olmasıdır. Bu nedenle analizlerin doğruluğu yüksektir.

Ayrıca Standart katma yöntemi ile **girişim sonucu oluşabilecek yanlışlar** minimuma indirilmiş olur.

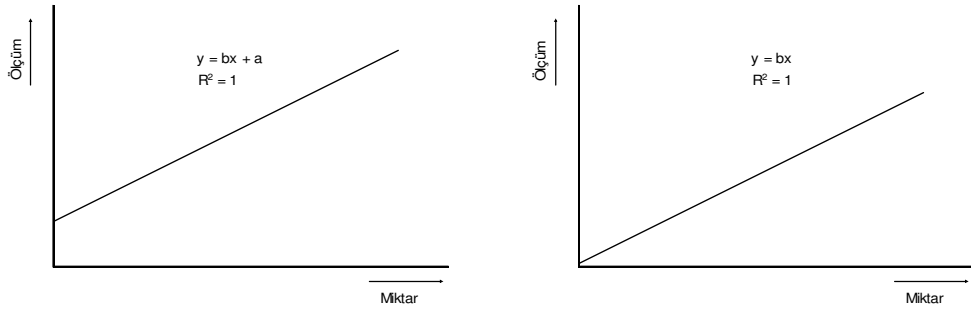
Girişimler Fiziksel, kimyasal ve spektral olmak üzere üç kısımda incelenir. Analizde yanlışığa neden olan faktörlerin tamamı girişim olarak tanımlanır. İncelenen elementin emisyon çizgisi herhangi bir ışınımın etkilenirse **spektral girişim** sözkonusudur.

Alev ölçüm koşullarını değiştiren tüm etmenler ile çözeltinin fiziksel koşullarını değiştiren tüm etmenler **fiziksel girişim** olarak tanımlanır. Fiziksel girişimlerde tuzlardan kaynaklanan matris girişim önemlidir. Alevde örnek çözeltisinin çözgeni uçurulurken örnek damlacıklarından katılmış cisimciklerin oluşması ve bu katılmış cisimciklerin belli bir ışık yayımı yapmasıdır.

Kimyasal girişim sistemin serbest durumdaki nötral atom konsantrasyonunu değiştiren tüm reaksiyonlardır. Kimyasal girişim olarak iyonizasyon girişimi de görülür. Bu “spektrokimyasal tampon” kullanılarak giderilebilir. Alev sıcaklığı düşürülerek de iyonizasyon girişimi engellenebilir.

Standart katma yönteminde standart ve örnek ortamları aynı olacağı için yukarıda sayılan girişimler önemli ölçüde engellenmiş olur.

Kalibrasyon Grafiği ve Denklem Değerleri Hesaplaması



Kalibrasyon grafikleri $y = bx + a$ veya $y = mx + c$ şeklinde ifade edilen doğru denklemdir. Burada b eğimi, a ise eğrinin y eksenini kestiği noktayı gösterir. R^2 ise korelasyon katsayısıdır.

Bu değerlerin hesaplanması için aşağıdaki yöntemler kullanılabilir.

1. **Microsoft Excel Türkçe** Programında
=EĞİM(y değerleri;x değerleri)
=KESMENOKTASI(y değerleri;x değerleri)
=RKARE(y değerleri;x değerleri) formülleri ile hesaplanabilir. Komutlar programın Türkçe veya İngilizce olması gibi dile göre değişebilir.
2. Grafik çizilerek grafik üzerinde eğim ve kesme noktası hesaplanabilir.
3. Fonksiyonlu hesap makinesi ile bulunabilir.
4. Aşağıdaki formüller kullanılarak matematiksel işlemle yapılabilir.

$$b = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad R^2 = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right]^{\frac{1}{2}}} \quad a = \bar{y} - b\bar{x}$$

Analiz Sonucunun Hesaplanması

Derişim hesaplamasında emisyon & hacim grafiğinde ,eğim **b** ve doğrunun y eksenini kestiği **a** değeri kullanılarak aşağıdaki 1.formülle hesaplanabilir.

$$1.\text{Formül} : C_{\bar{o}} = \left(\frac{a}{b}\right) \cdot \left(\frac{C_s}{V_{\bar{o}}}\right) \quad 2.\text{Formül} : C_{\bar{o}} = \frac{A_{\bar{o}} C_s V_s}{A_{\bar{o}+s} (V_{\bar{o}} + V_s) - V_{\bar{o}} A_{\bar{o}}}$$

1.Formülü uzun uzun türetmek yerine aynı formül şöyle de elde edilebilir. Grafikte

y = 0 için a / b ile bulunan x değeri ilave edilen standart hacmine benzeyen bir değerdir. Bu değer standart derişimi ile oranlanarak derişime çevrilirse 10 ml örnekteki derişim bulunmuş olur. $C_s \cdot V_s = C_{\bar{o}} \cdot V_{\bar{o}}$ ise $C_{\bar{o}} = V_s \cdot (C_s / V_{\bar{o}})$

Veya tek standart ve örneğin sinyali kullanılarak üstteki 2.formül ile de hesaplanabilir. Ancak standart çözeltinin fazla olması daha güvenilir sonuçlar için önemlidir.

Doğru Sonuç İçin Belirsizlik Katsayısı

Derişim hesaplamasında hangi yoldan gidilirse gidilsin sonucun güvenilirlik ve doğruluğu için belirsizlik değerinin ilave edilmesi gerekir.

Bu da aşağıdaki formülle hesaplanabilir.

$$\text{Belirsizlik} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{N-2}} \quad \text{Buradaki } \hat{y}_i \text{ değeri grafik denkleminde x değerleri}$$

yerine konularak bulunan y değerleridir. N ise ölçüm sayısıdır.

Güvenilir bir sonuç için belirsizliğin 3 katı eğrinin y eksenini kestiği noktadaki a değerine ilave edilerek eğimden x değeri bulunur. Bulunan bu sonuç örnek çözeltinin derişimini veya ilave edilen standarta benzer hacim değerini verir. Örnek çözeltinin derişimi hesaplandıktan sonra örneğin derişimi de bulunabilir.

Sinyal & Hacim ile Sinyal & Derişim Kalibrasyon Farklılığı

Standart katma yönteminde standartların derişimi ile sinyal (emisyon, absorpsiyon, vb.) arasında kalibrasyon grafiği çizilebileceği gibi, sinyal ile standartlara ilave edilen stok hacmi arasında da kalibrasyon grafiği çizilerek ölçüm yapılabilir. Ancak sinyal-hacim grafiğinde sinyaldeki küçük yanlışlar veya sapmalar derişimde büyük farklanmalara neden olacaktır. Bu oran aşağıdaki formülle ifade edilebilir.

$$\frac{0,4343 \Delta T}{T \log T} = \frac{\Delta C}{C}$$

Her iki grafikte de bulunan değer örnek çözeltiliye aittir. Standartlara ilave edilen örneğe ait değildir.

Ayrıca sinyal & derişim grafiğinde bulunan değer örnek çözeltideki türün derişimini verir. Sinyal & hacim grafiğinde bulunan değer ise standartlara ilave edilen stok çözelti hacmine benzeyen bir değerdir. Bu gerekli oranlama ile derişime dönüştürülür.

DENEYİN YAPILIŞI

1000 ppm lik Stok Na⁺ çözeltilisinden 50 ml 50 ppm ara stok hazırlanır. Analizi yapılacak örnekten 10' ar ml alınarak 50 şer ml'lik örnek ve standart balon jocularine ilave edilir. Ara stoktan 2,4,6 ml alınarak standartlara ilave edilir. Çözelti su ile 50 ml'ye seyreltilir. Böylece 2,4,6 ppm 50'şer ml standart çözeltileri hazırlanmış olur.

$$C_1V_1 = C_2V_2 \Rightarrow 50 \text{ ppm} \cdot X \text{ ml} = 2 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} \Rightarrow X = 2 \text{ ml bulunur.}$$

Diğerleri de 4 ve 6 ml olarak hesap edilir.

Ölçüm için gaz tüpü açılır. Gaz ateşlenerek yanması sağlanır. Alev rengi maviye dönünceye kadar alevin boyu kısaltılır. Seyreltilen saf su ile cihaz sıfırlanır.

Daha sonra standartlar ve örnek için emisyon değeri okunur.

| | | | | |
|-------------------------|-------|-------|-------|------|
| Standart Hacmi (ml) | 0 | 2 | 4 | 6 |
| Standart Derişimi (ppm) | 0 | 2 | 4 | 6 |
| Emisyon | 0,027 | 0,091 | 0,155 | 0,22 |

Emisyon & Derişim Grafiğine Göre Hesaplama

Normal Hesaplama:

$y = 0,03215x + 0,0268$ eğri denkleminde $x = 0$ için $y = 0,0268$ bulunur.

Bu değeri eğrinin eğimine bölerek bu emisyonu karşılık gelen **derişim değerini** bulmuş oluruz

$$C_0 = 0,0268/0,03215 = 0,8335925 \text{ ppm}$$

Bulunan bu sonuç 50 ml örnek çözeltiliye aittir. Alınan 10 ml örnek için bulursak $0,8335925 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = C_0 \cdot 10 \text{ ml}$ ise $C_0 = 4,1679627$ olur.

Belirsizlik İlaveli Hesaplama:

Belirsizlik değerinin 3 katını y değerine ilave edersek

$$y = y_{k\ddot{a}r} + 3S_{k\ddot{a}r} \text{ ise } y = 0,268 + (3 \times 0,0003873) = 0,0279619 \text{ bulunur}$$

$$C_0 = 0,0279619 / 0,03215 = 0,8697323 \text{ ppm}$$

Bulunan bu sonuç 50 ml örnek çözeltiliye aittir. Alınan 10 ml örnek için bulursak $0,8697323 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = C_0 \cdot 10 \text{ ml}$ ise $C_0 = 4,3486617$ ppm olur.

Emisyon & Hacim Grafiğine Göre Hesaplama

Normal Hesaplama:

$y = 0,03215x + 0,0268$ eğri denkleminde $x = 0$ için $y = 0,0268$ bulunur.

Bu değeri eğrinin eğimine bölerek bu emisyonu karşılık gelen **hacim değerini** bulmuş oluruz. Bu değer derişim olarak standarta eşit olan örnek hacmi değeridir. Bu hacmi derişime çeviriz.

$$V_{\delta} = 0,0268/0,03215 = 0,8335925 \text{ ml}$$
 Bunu derişime çevirirsek;

$$0,8335925 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm} = C_{\delta} \cdot 50 \text{ ml}$$
 ise $C_{\delta} = 0,8335925 \text{ ppm}$ olur.

Bulunan bu sonuç 50 ml örnek çözeltiye aittir. Alınan 10 ml örnek için bulursak $0,8335925 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = C_{\delta} \cdot 10 \text{ ml}$ ise $C_{\delta} = 4,1679627$ olur.

Belirsizlik İlaveli Hesaplama:

Belirsizlik değerini y değerine ilave edersek

$$y = y_{\text{kör}} + 3S_{\text{kör}} \text{ ise } y = 0,268 + (3 \times 0,0003873) = 0,0279619 \text{ bulunur}$$

$$V_{\delta} = 0,0279619 / 0,03215 = 0,8697323 \text{ ml}$$
 Bunu ppm' e çevirirsek

$$0,8697323 \text{ ml} \cdot 50 \text{ ppm} = C_{\delta} \cdot 50 \text{ ml}$$
 ise $C_{\delta} = 0,8697323 \text{ ppm}$ olur.

Bulunan bu sonuç 50 ml örnek çözeltiye aittir. Alınan 10 ml örnek için bulursak $0,8697323 \text{ ppm} \cdot 50 \text{ ml} = C_{\delta} \cdot 10 \text{ ml}$ ise $C_{\delta} = 4,3486617$ olur.

Tüm hesaplamalar ve grafikler Ek'tedir.

SONUÇ

Alev fotometrisinde analiz sonucunun doğruluğuna etki eden girişim (interferans) olaylarını minimize etmek için standart katma metodunun etkili bir metod olduğu görülmüştür.

Deney sırasında tüm standartların ve örneğin aynı alevde emisyonunun ölçülmesi en önemli ayrıntılardan biridir. Alev stabilitesinin ölçüm üzerindeki etkisinin oldukça önemli olduğu gözlemlenmiştir.

Kalibrasyon grafiği çizimlerinde hacim & emisyon yerine derişim & emisyon grafiği çizilmesi ve hesapların bu grafik üzerinden yapılması daha doğru sonuç için önemlidir. Her ne kadar burada yapılan deneyde $R^2 = 1$ çıkması nedeniyle derişim hesaplamasına etkisi olmasada R^2 değerinin 1 den küçük olduğu durumlarda grafikten bulunan hacim değerindeki yanlışlıklar, derişim hesaplamasında büyük hatalara neden olabilir.

Standart Katma Yöntemi ile yapılan analizin sonucunu hesap etmek üzere Microsoft Excel' de yazılan **Standart Katma Programı** www.mhilmieren.cjb.net adresinde Enstrümantel Analiz konuları içinden indirebilir. Bu programa derişimler, emisyonlar, standart derişimi, örnek hacmi ve standart çözelti hacmi girildiğinde **anında sonucu göstermektedir.**

NOT:

Standart Katma Programı hazırlanmasında ve kalibrasyon eğrilerinin çizilerek belirsizlik düzeltmeli derişim bulunmasında sadece 2002 Bahar döneminde **Dr.Hasan ERTAŞ** tarafından verilen **Kemometri** ders notları ve bilgileri kullanılmıştır.

