

MORÖTESİ VE GÖRÜNÜR ALAN SPEKTROSKOPİSİNİN YENİ ÇEHRESİ: TÜREV SPEKTROSKOPİSİ

Muzaffer TUNÇEL (*)

ÖZET:

Son yıllarda, türev spektroskopisi analitik kimya dalında artan bir önem kazanmıştır. Yöntemin temeli morötesi-görünür alan spektroskopisine dayanmasına karşın, analitik uygulanabilirliği konusunda birçok üstünlüğe sahiptir. Yöntem zaman alıcı ve pahalı işlemlere başvurmaksızın örnek analizine olanak sağlaması yüzünden çok sayıda araştırmacının dikkatini çekmektedir.

Bu derleme, türev spektroskopinin teori, özellik ve uygulamalarını kapsamaktadır ve makalenin iyi bir başlangıç ve faydalı başvuru bilgileri sağlayacağı umulmaktadır.

THE NEW ASPECT OF ULTRAVIOLE-VISIBLE SPECTROSCOPY: DERIVATIVE SPECTROSCOPY

SUMMARY:

Recently, derivative spectroscopy has gained increasing importance in the branch of analytical chemistry. Although the principle of this method is based on ultraviolet-visible spectroscopy, it has many advantages in regarding analytical applicability. The method is attracting the attention of many researchers because of its ability to analyse samples without resort to time-consuming and costly procedures.

This review comprises the theory, features and applications of derivative spectroscopy and it is hoped that this article will prove a good introduction and useful informative knowledge.

GİRİŞ:

Morötesi-görünür alan spektroskopisi (UV-görünür alan spektroskopisi) miktar tayini ile ilgili herkesin az veya çok aşına olduğu bir yöntemdir. Bilindiği gibi bu yöntemin temeli madde ışık etkileşimi olup, madde çözeltisi üzerine gönderilen monokromatik ışığın absorbe edilmesine dayanır. Bu absorpsiyon moleküler absorpsiyondur ve maddenin iç enerjisi ile ilişkilidir.

Absorpsiyon olayı moleküllerdeki enerji düzeyleri ile açıklanır. Moleküllerdeki enerji düzeyleri atomlarınkine kıyasla daha çoktur. Bir molekülün iç enerjisi elektronik, titreşim ve dönme enerjileri toplamına eşittir. Her elektronik düzeyde birkaç titreşim, her titreşim düzeyinde de birçok dönme enerji düzeyi bulunur. Uyarılmış duruma geçebilmek için en fazla enerjiye elektronik, daha az enerjiye titreşim, bunlar arasında en az enerjiye de dönme düzeyleri gerek gösterir.

(*) Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dah.

rir. Moleküller temel durumlardan uyarılmış durumlara enerji absorbe ederek geçerler. Bu enerji absorpsiyonu da spektrumların elde edilmelerine yol açar.

Moleküller sadece elektronik enerji düzeylerine sahip olsalardı sahip oldukları enerji düzeyi sayısı kadar keskin spektral band meydana getirmeleri gerekirdi. Yukarıda belirtildiği gibi her elektronik enerji düzeyi birkaç tane de titreşim enerji düzeyine sahip olduklarından oluşan spektralar genişlemekte, böylece gerek kalitatif gerekse kantitatif tayinlerde kullanılacak ipuçları ortadan kalkmaktadır.

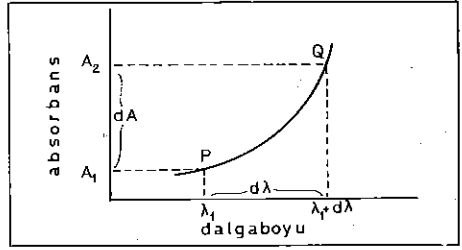
Türev spektroskopisi bir maddenin UV-görünür alan spektralarının başka bir yorumu olup, son zamanlardaki aşaması ile etkili bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Türev spektroskopisinin doğuşu 1953-1955 yıllarına rastlar (1-3). Bu konudaki teorik görüşler ve yöntemin uygulanabilirliği O'Haver ve Green (4-5) tarafından verilmiştir. Bu çalışmalara ek olarak yöntem ve aletsel düzeneklerle ilgili temel çalışmaların da belirtilmesi gerekir (6-9).

TÜREV SPEKTROSKOPİSİNİN TEMELİ

Türev spektroskopisinin temeli kimyasal maddelerin UV-görünür alan spektral eğrilerinin türevlerinin alınması ilkesine dayanmaktadır. Bu işlem, spektrofotometrelerin çıkış sinyallerinin elektronik veya sayısal diferensiyelinin alınması veya mekanik takometre eklenmesi ile yapılmaktadır. Aynı türev alma işlemi, özel optik donanımlı spektrofotometreler kullanılarak çift dalgaboylu aletlerle veya dalgaboyu modülasyonu yapan sistemlerle de gerçekleştirilmektedir.

Bilindiği gibi bir fonksiyonun türevi; "fonksiyon artımının değişken artımına oranının bağımsız değişken artımı değiştiği ve sifıra bir limit olarak yaklaştığı zamanki limitinden oluşur" diye tarif edilir. Bu tarifi grafik olarak Şekil 1'deki gibi göstermek mümkündür.

Bir fonksiyon $A = f(\lambda)$ ile tamamlanrsa, bu fonksiyonun birinci türevi



Şekil 1. Türevin bir eğri üzerinde anlatımı.

$$dA/d = f'(\lambda) \dots\dots\dots 1$$

aynı işlemler sürdürülerek

$$d^n A/d \lambda^n = f^n(\lambda) \dots\dots\dots 2$$

yüksek dereceli türev eğrileri elde edilmektedir.

Türev alma işleminin UV-görünür alan spektroskopisine uygulaması yukarıdaki temellere bağlı kalarak aşağıdaki gibi yapılmaktadır.

Bu spektroda; (λ) dalgaboyunu (A) soğurulmayı gösterdiğine göre:

$$A(\lambda) = \log_{10} \frac{I_0}{I} = E(\lambda) \times c \times l \dots\dots 3$$

Bilindiği gibi bu eşitlik UV-görünür alan spektroskopisinin temel bağıntısıdır. Bu eşitlikten görüldüğü gibi derişim (c) ve ışık yolu (l) değişmez tutulduğunda, absorpsiyon (A) ile molar ekstinsiyon katsayısı (E) dalgaboyunun (λ) bir fonksiyonudur.

Bu bilgilerin ışığında Eşitlik 3'ün türevi

$$\frac{dA}{d\lambda} = \frac{dE(\lambda)}{d\lambda} \times c \times l \dots\dots\dots 4$$

Aynı işlemler benzer yollar izlenerek türev derecesi artırıldığında aynı eşitliğin n'inci türevi

$$\frac{d^n A}{d \lambda^n} = \frac{d^n E(\lambda)}{d \lambda^n} \times c \times l \text{ elde edilir. } \dots\dots 5$$

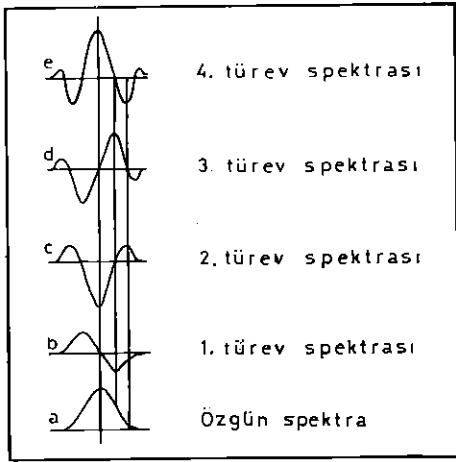
Eşitlik 5'de görüldüğü gibi madde çözeltilisinin n'inci türevi belli dalgaboyunda

maddenin derişimi ile orantılıdır. Başka bir deyişle molar türev spektralarından kantitatif olarak tayin edilebilir, çünkü özgün spektranın karakteristikleri tümüyle bir oran içerisinde türev spektralarına geçmektedir.

TÜREV SPEKTRALARININ KARAKTERİSTİKLERİ

Türev spektraları özgün eğriden başlanarak türev derecesinin bir artırılması ile elde edilmektedir. O halde türev eğrileri kendisinden bir önceki eğrinin bir üst dereceli türev eğrisidir. Türev spektraları birinci ikinci gibi dereceleri ile anılmaktadır. Çoğu araştırmada özgün spektra sıfırncı derece olarak geçmektedir. Doğaldır ki bu eğrilerin şekilleri birbirlerinden farklıdır.

Gauss eğrisi özgün bir spektra olarak kabul edildiğinde türetilen türev eğrilerinin şekilleri Şekil 2'deki gibi olmaktadır.



Şekil 2. Derecelerine göre türev eğrilerinin şekilleri.

Türev spektraları incelendiğinde, birinci türev eğrisinin özgün spektraya benzediği görülür. Özgün spektranın tepe noktasında

$$\frac{dA}{d\lambda} = 0$$

olduğundan, birinci türev eğrisinin dalga boyunu belirtmektedir. Çift sayılı ikinci ve dördüncü derece türev spektraları öz-

gün türev eğrilerinde türev derecesi arttığında merkezi bandın küçüldüğü görülür.

TÜREV SPEKTROSKOPİSİNİN ÜSTÜNLÜKLERİ

Bütün türev eğrileri özgün spektradaki gözlenmesi zor olan ince farklılıkların özelliklerini ortaya çıkarma eğilimindedirler. Bu özellikten yararlanılarak madde ile ilgili daha çok kantitatif tayin olmak üzere kantitatif bilgiler sağlanabilir.

Özgün spektralarda gözlenmesi zor olan eğimlerdeki ince değişikliklerin belirtilerini artırarak spektralararası farkların artmasına neden olurlar. Bu farklılıklar az miktarlardaki safsızlıkları tayin etmeye yardım eder.

Türev spektraları özgün spektralardan çok daha karakteristik olmalarına karşın, spektral verilerin bir bölümü indirgenir, Örneğin bir maddenin spektrasi türev alındıkça veya türev derecesi artırılınca bazı karakteristiklerin kaybolduğu görülür. Bu bir sakınca gibi görülmekteyse de analitik işlemlerde bir üstünlük olarak kullanılabilir.

Spektralardaki dengeleme faktörü (offset factor) türev spektralarında giderek azalmakta veya dengeleme faktörünün eğimine bağlı olarak birinci türevden başlayarak giderek ortadan kalkmaktadır. Türev spektroskopisinin bu özelliğinden yararlanılarak çoğu tayinlerde tüketme işlemi yapılmadan sonuca gidilebilmektedir.

TÜREV SPEKTROSKOPİSİ UYGULAMALARI

Türev spektroskopisi belli konu ve alanlara özgü bir yöntem değildir. Analitik kimya ağırlıklı kalite kontrolü ile ilgili alanlar başta olmak üzere toksikoloji, biyoloji biyokimya ve klinik biyokimya ve endüstriyel alanlarda önemli uygulamalara sahiptir. Bu uygulamaların ilginç olanları aşağıda verilmektedir.

Kalitativ Uygulamalar

Olson ve Alway (8) araştırmalarında spektrofotometrelere eklenen özgün spektraların yalnız birinci türevlerini alabilen bir elektriksel devre önermişler, geliştir-

dikleri düzenekle testesteron ve 1-dehidro-ro-testesteron'un spektral eğrilerini kaydederek kalitatif analizde bu yöntemin çarpıcı bir yöntem olduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı araştırmada progesteron, 11 α -hidroksiprogesteron 11 β -hidroksiprogesteron ve 17 α -hidroksiprogesteron grubu ile progesteron, 6 α -metilprogesteron ve 6 β -metilprogesteron grubu elemanlarının da bu yöntemle kalitatif analizlerinin yapılabileceğini göstermişlerdir.

Kalitatif Eser Miktar Gaz Analizleri

Williams ve arkadaşı (10) birinci türev eğrisi yardımıyla karbon monoksitin (CO) analizini, Ishii ve arkadaşları (11) ikinci türev eğrilerini kullanarak kükürt dioksit (SO₂) ve azot monoksit tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmalar, hava kirliliği gibi çevre toksikolojisi alanına uygulanmıştır.

Eczacılıkla İlgili Analizler

Fasanmade ve arkadaşı (12) farmasötik preparatlarda kolayca yükseltgenerek sulfoksitini meydana getiren klorpromazin üzerinde çalışmışlardır. Üçüncü derece türev eğrilerinden yararlanarak tablet, ampul ve şuruplarda klorpromazin'in stabilize konusunu araştırmışlardır.

Such ve arkadaşları (13) ikinci derece türev spektralarını kullanarak tiamin HCl (B₁ vitamini) ve pridoksin HCl (B₆ vitamini) karışımlarında bu maddelerin tayini için bir yöntem geliştirerek, beklemiş farmasötik preparatların stabilitelelerini incelemişlerdir.

Abdel-Hamid ve arkadaşları (14) farmasötik preparatlarda askorbik asit (C vitamini) ve tiamin HCl (B₁ vitamini) karışımlarının sıfırncı ve ikinci derece türev eğrilerini kullanarak ilgili maddelerin miktar tayinlerini gerçekleştirmişlerdir.

Toksikoloji Alanı İle İlgili Analizler

Nagashima ve arkadaşları (15) çalışmalarında spektrofotometrik tekniğe ek bazı sistemler kullanmışlardır ve 1×10^{-8} M düzeyinde nitrit ve nitrat karışımlarını analizlemişlerdir. Araştırmacılar ikinci de-

rece türev eğrilerini kullanmışlar, geliştirdikleri yöntemi deniz suyunda nitrit ve nitrat tayini yaparak değerlendirmişlerdir.

Park ve arkadaşları (16) ikinci derece türev eğrilerinden yararlanarak kandaki karboksihemoglobin tayinine olanak veren bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemi kullanarak sigara içmeyenlerin kan karboksihemoglobin düzeylerini karşılaştırmışlardır.

Lawrence (17) sıfırncı ve ikinci derece türev eğrilerini kullanarak eroin ve morfin karışımlarını, aynı araştırmacı (18) ikinci derece türev eğrilerinden yararlanarak Δ^9 -tetrahidrokannabinol ve kannabinol karışımlarını analizlemişlerdir.

Biyokimya, Klinik Biyokimya Alanı İle İlgili Analizler

Hager ve arkadaşları (19) ve Hunt ve arkadaşları (20) ikinci türev eğrilerini kullanarak plazma, kan ve spinal sıvıdaki amonyağın tayinine olanak veren yöntem geliştirmişlerdir.

Türev spektroskopisi ile protein ve amino asitlerle ilgili birçok araştırma yapılmıştır (21, 22). Bu araştırmalardan başka; Levine ve arkadaşları (23) bazı amino asit feniltiohidantoinlerin tayinlerini, Ichikawa ve Terada (24, 25) proteinlerdeki fenilalaninin ikinci türev eğrilerinden yararlanarak teşhis ve tayinlerini gerçekleştirmişlerdir.

Endüstriyel Analizler

Bridge ve arkadaşları (26) birinci ve ikinci türev eğrilerini kullanarak yün ve naylonlara uygulanan bazı asit boyaların kalitatif karakteristiklerinin belirlenmesi konusunda çalışmışlardır.

Leung ve arkadaşları (27) hidrokarbon yağlarının içerisine katılan solvent red 24 diye bilinen renklendirici maddenin kantitatif tayini için birinci ve ikinci türev eğrilerini kullanarak bir yöntem geliştirmişlerdir.

Dixit ve arkadaşları (28) ikinci türev eğrileri ile petrol fraksiyonlarında alkil-naftalenlerin tayinini gerçekleştirmişlerdir.