

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**DOĞAL SULARDA URANYUMUN SAPTANMASI
İÇİN BİR LÜMİNESANS ALGILAMA SİSTEMİNİN
GELİŞTİRİLMESİ**

Çağlar ÖZER

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mahmut A. A. ASLANI

Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 622.01.02

Sunuş Tarihi : 29.07.2013

Bornova-İZMİR

2013

Çağlar ÖZER tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Doğal Sularda Uranyumun Saptanması İçin Bir Lüminesans Algılama Sisteminin Geliştirilmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 29/07/2013 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği / oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Mahmut A. A. ASLANI

.....

Raportör Üye: Prof. Dr. Hüseyin TEL

.....

Üye : Doç. Dr. Özlem KARADENİZ

.....

ÖZET

DOĞAL SULARDA URANYUMUN SAPTANMASI İÇİN BİR LÜMINESANS ALGILAMA SİSTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ

ÖZER, Çağlar

Yüksek Lisans Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mahmut A. A. ASLANI

Temmuz 2013, 79 sayfa

Bu çalışmanın amacı lüminesans olayını eş zamanlı algılama ve değerlendirme yapabilme özelliklerine sahip portatif, kompakt elektro-optik bir sistemin geliştirilmesidir.

Lüminesans olayını incelemek üzere yapımı gerçekleştirilen sistem sırasıyla uyarma kaynağı (UV Lazer), lüminesans olayının gerçekleşeceği reaksiyon kuvveti, görüntü sensörü modülü, sistemin elektronik bileşenlerini içerisinde barındıracak olan kısım ve sistemin kontrolünü sağlayacak olan yazılımın yüklü olduğu bilgisayardan oluşmaktadır. Analizi istenilen numune reaksiyon kuvvetine aktarılır ve burada uyarma kaynağı ile ışınlanır. Floresans olayının gerçekleşmeye başlaması ile yayımlanan floresans ışınları görüntü sensörü modülü tarafından algılanır. Algılanan bu ışınlar floresans olayının şiddeti ile orantılı olacak şekilde, modülün çıkışında analog gerilim pulslarına dönüştürülür. Bu analog gerilim pulsları elektronik sistem sayesinde dijital bilgiye dönüştürülür ve bilgisayara gönderilir. Bu sistem için MATLAB yazılımı kullanılarak yazılan arayüz ile bu dijital bilgiler işlenir. Kullanılan numuneye ait lüminesans olayının şiddeti ve dalga boyu gibi veriler bilgisayarda saklanabilmektedir.

Bu sistem ile sıvı numune içerisindeki metalin konsantrasyonunu tayin edebilmek için sistem kalibre edilmektedir. Sistemin kalibrasyonu için en küçük kareler metodu kullanılmaktadır.

Anahtar sözcükler: Lüminometre, uranyum, fluran, uranyum analizörü, florimetri.

ABSTRACT**DEVELOPING A LUMINESCENCE DETECTION SYSTEM FOR
DETERMINATION OF URANIUM IN NATURAL WATERS**

ÖZER, Çağlar

MSc in Nuclear Sciences

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mahmut A. A. ASLANI

July 2013, 79 pages

The aim of this study is to develop a portable, compact elektro-optic system which is able to simultaneous detection and evaluation of the luminescence phenomenon.

The system which is developed to study luminescence phenomenon consists of excitation source (UV Laser), the reaction cell in which luminescence event will occur, module of the image sensor, electronic parts of the system and the computer loaded the software controlling the system, respectively. Sample is added to reaction cell for analyzing. In the cell, sample is excited by excitation source and fluorescence rays, emissioned in the result of fluorescence event are detected by image sensor. These rays are converted to analog voltage pulses which is proportional via intensity of the fluorescence in output of module. The analog voltage pulses are converted to digital data by electronic system and transmitted to computer. The digital data are processed by using interface prepared in MATLAB and the intensity data of the luminescence and wavelenght data of the sample concentration can be saved in the computer.

The system is calibrated to detect metal concentration in liquid sample. Least square method was used for calibration of the system.

Key words: Luminometer, uranium, fluran, uranium analyzer, fluorometry.

TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında bilgi birikiminden, önerilerinden, rehberliğinden yararlandığım ve tezim süresince bana her türlü çalışma olanağını sağlayan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Mahmut A. A. ASLANI'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Önerileri ve bilgi birikimi ile çalışmama katkı sağlayan E.Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü bölümünün diğer öğretim üyelerine ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmamın her aşamasında beni destekleyen aileme en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Çağlar ÖZER

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Lüminesans	5
2.2 Floresans Spektroskopisinin Tanımı	5
2.3 Floresans Oluşumunun Prensipleri	7
2.4 Floresansı Etkileyen Faktörler	10
2.5 Floresans Şiddeti ile Derişim Arasındaki İlişki	12
2.6 Floresans Yayma Yönü	15
2.7 Floresans Emisyonunda Ayna Görüntüsü	15
2.8 Floresans Ömrü ve Kuantum Verimi	16
2.9 İdeal Spektroflorimetreler	16
2.9.1 Monokromatör	17

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.9.2 Işık şiddetinin algılanmasında kullanılan yapılar.....	19
2.9.3 Işık geçirmeyen odacık, örnek odası ve reaksiyon hücresi	21
2.10 Floresans Spektrometrenin Uygulama Alanları.....	24
3. MATEYAL VE YÖNTEM.....	25
3.1 UA-3 Uranyum Analizörü	25
3.2 Algılama Sisteminin Yapısı	28
3.2.1 CMOS görüntü algılama modülü.....	31
3.2.2 Analog dijital dönüştürücü (ADC) entegresi	32
3.2.3 Mikro denetleyici (MCU) kontrollü elektronik sistem	33
3.2.4 Sistemin yazılımı.....	36
3.3 Lüminometre Sisteminin Ön Testlerinin Yapılması	39
3.3.1 Dalgaboyu ve şiddet ölçümü.....	39
3.3.2 Farklı emisyon şiddetlerinde sistemin dalgaboyu ayırma gücünün test edilmesi	40
3.4 Ölçüm Belirsizliğinin Tespit Edilmesi.....	40
3.5 Uranyum Sıvı Faz Çalışmaları.....	41
3.5.1 Organik çözeltilerde uranyumun saptanması	41
3.5.2 Uranyumun sulu çözeltide saptanması.....	41
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	43

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.1 Lüminometre Sistemi İçin Yapılan Ön Testlerin Sonuçları	43
4.1.1 Dalgaboyu-şiddet ölçüm denemeleri	43
4.1.2 Farklı emisyon şiddetlerinde dalgaboyu ayırma duyarlılığı	49
4.1.3 Farklı dalgaboylarındaki ledler ile aynı anda yapılan denemeler	53
4.2 Ölçüm Belirsizliğinin Tespit Edilmesi	55
4.3 Uranyum Sıvı Faz Çalışmaları.....	61
4.3.1 Organik çözeltilerde uranyumun saptanması.....	61
4.3.2 Uranyumun sulu çözeltide saptanması	65
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	79
EKLER

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Jablonski enerji diyagramı.....	10
2.2 Molekül üzerine düşen enerjinin dağılımı	13
2.3 Floresans emisyonunun ayna görüntüsü.....	16
2.4 Floresans spektrometre cihazını oluşturan birimlerin ışık şiddeti ve dalgaboyuna bağlı kıyaslaması	17
2.5 Tipik bir monokromatör	18
2.6 Floresans spektrometre cihazının optik krokisi	18
2.7 Bir lüminometri sisteminin blok yapısı	19
2.8 CMOS görüntü sensörü (A) ve CCD görüntü sensörü (B).....	20
2.9 Temel bir luminometrede ışık geçirmeyen odanın, reaksiyon hücresinin ve örnek odasının bir arada kullanımı	21
2.10 Işık geçirmeyen odanın, reaksiyon hücresinin ve örnek odasının birbirinden bağımsız kullanıldığı bir luminometre yapısı	22
3.1 Uranyumun floresans spektrumu	26
3.2 UA-3 uranyum analizörü cihazı.....	28
3.3 Lazer florimetri (UA-3 analizörü) diyagramı	29
3.4 Modifiye edilmiş lazer florimetri sisteminin blok diyagramı.....	29
3.5 Lüminometre sisteminin blok diyagramı.....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.6 Lüminometre sisteminin görüntüsü	30
3.7 CMOS görüntü algılama modülünün iç yapısı	31
3.8 CMOS görüntü sensörü modülü	32
3.9 ADC'nin (a) iç devre yapısı, (b) pin ve (c) harici bağlantılarının blok diyagramı	32
3.10 MCU'nu pin bağlantıları.....	33
3.11 ADC zamanlama çizelgesi	33
3.12 CMOS görüntü algılama modülünün zamanlama çizelgesi.....	34
3.13 MCU içine aktarılan programın akış diyagramı	34
3.14 MCU'nun çevresel birimleri kontrol etmesi için izlenen yol	35
3.15 Lüminometre sisteminin yazılımının ekran görüntüsü	37
3.16 Sistem yazılımının akış diyagramı	38
3.17 Dalgaboyu ve şiddet ölçüm testi	39
3.18 Dalgaboyu ayırma gücü test sistemi	40
4.1 Mavi led, emisyon dalga boyu - şiddet ölçümü	44
4.2 Yeşil led, emisyon dalga boyu - şiddet ölçümü	45
4.3 Sarı led, emisyon dalga boyu - şiddet ölçümü	46

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.4 Kırmızı led, emisyon dalga boyu - şiddet ölçümü.....	47
4.5 Led emisyonlarının ölçülmüş dalga boyu – şiddet değerleri.....	48
4.6 Mavi ledin çeşitli mesafelerdeki dalgaboyu – şiddet değerleri	49
4.7 0 cm’de mavi led piki	50
4.8 10 cm’de mavi led piki	51
4.9 25 cm’de mavi led piki	52
4.10 Mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler ile aynı anda yapılan deney sonuçları.....	54
4.11 Mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler ile aynı anda yapılan deney sonuçlarının üst üste gerilmiş hali	54
4.12 Mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler için belirlenen dalga boyları	55
4.13 5 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçüm spektrumları.....	58
4.14 10 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçüm spektrumları.....	59
4.15 15 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçüm spektrumları.....	60
4.16 5ppb uranyum içeren organik çözeltinin spektrumu	61
4.17 10ppb uranyum içeren organik çözeltinin spektrumu	62
4.18 15ppb uranyum içeren organik çözeltinin spektrumu	62

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.19 Organik çözeltilerde 5,10 ve 15ppb'lik uranyum konsantrasyonları için elde edilen spektrumların üst üste getirilmiş hali	63
4.20 Organik çözeltilerden elde edilen sonuç için kalibrasyon grafiği.....	63
4.21 7ppb uranyum içeren organik çözeltinin spektrumu.....	64
4.22 5ppb uranyum içeren sulu çözeltinin spektrumu	66
4.23 10ppb uranyum içeren sulu çözeltinin spektrumu	66
4.24 15ppb uranyum içeren sulu çözeltinin spektrumu	67
4.25 Sulu çözeltilerde 5,10 ve 15ppb'lik uranyum konsantrasyonları için elde edilen spektrumların üst üste getirilmiş hali	67
4.26 Sulu çözeltilerden elde edilen sonuç için kalibrasyon grafiği.....	68
4.27 7ppb uranyum çeren sulu çözeltinin spektrumu	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Bazı detektör ve görüntü sensörü türleri.....	21
3.1 UA-3 cihazının bazı özellikleri.....	27
4.1 Led emisyonlarının ölçülmüş dalgaboyu-şiddet değerleri.....	48
4.2 Mavi ledin çeşitli mesafelerdeki şiddet değerleri	49
4.3 Mavi led pikinin çeşitli mesafelerdeki Şiddet - FWHM değerleri	53
4.4 5ppb U ile fluran karışımı için tekrarlı ölçümlerin istatistiki verileri.....	56
4.5 10ppb U ile fluran karışımı için tekrarlı ölçümlerin istatistiki verileri.....	56
4.6 15ppb U ile fluran karışımı için tekrarlı ölçümlerin istatistiki verileri.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
ADC	Analog dijital dönüştürücü
CCD	Charge coupled device
CMOS	Complementary metal oxide semiconductor
EOS	Tarama sonu (End of scan)
FWHM	Yarı yükseklikteki tam genişlik
K.B.	Keyfi birim
MCU	Mikro denetleyici birimi (Microcontroller unit)
PMT	Fotoçoğaltıcı tüp

1. GİRİŞ

Milattan önce 1500 - 1000 yılları civarında çin literatüründe görülen, yazılı kaynaklardan alınan ilk lüminesans olayı, ateş böceklerini tanımlamaktadır. Güneş ışığına maruz kaldığında birçok maddenin görünür radyasyon yayınladığı yüzyıllardır bilinmektedir. Hayvanların ve böceklerin parıldaması gibi lüminesans olayları antik çağlardan beri insanların ilgi odağı olmuştur. Temel olarak lüminesans kavramı, herhangi bir cismin, dış bir kaynaktan herhangi bir şekilde aldığı enerjinin bir kısmını, elektromanyetik ışınım olarak salması olarak açıklanabilir (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

Fotonların bir molekül tarafından soğurulması olarak tanımlanan ışık soğurulması olayı sonucu, molekül temel enerji durumundan uyarılmış duruma geçer. Elektronların daha üst enerji düzeylerine yerleşmesi ile atom veya molekülün uyarılmış hali oluşur. Uyarılmış bir atom veya molekül kararsızdır; fazla enerjisini atarak temel hale dönmek ister. Atom veya molekül temel enerji düzeyine dönerken fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışığa dönüştürebilir. Işınım ile uyarma sonucu molekülün enerjisini ortama ışımaya yayması olayı fotolüminesans ya da lüminesans olarak adlandırılır. Lüminesans; uyarılmış enerji seviyesinin durumuna göre iki şekilde olabilir: Floresans veya fosforesans. Floresans, uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki bir singlet sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa denir. Fosforesans ise uyarılmış bir triplet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa denir (Beiser, 1997).

Lüminesans ölçümlerinde, daha basit temel sistemler yeterli olmaktadır. Ayrıca ortamdaki ışık seviyesini en aza indirerek gürültü sinyalleri azaltılabilir ve deteksiyon limitleri yükseltilebilir (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

Bu anlamda lüminesans şiddetini ölçerek bir elementin konsantrasyonunun tayini için kullanılacak sistemler diğer elementel analiz sistemlerine göre (AAS, ICP-OES, ICP-MS gibi.) daha düşük maliyet ile üretilmektedir (Garcia-Campana and Baeyens, 2001). Bu durum, lüminesans emisyonunu algılama prensibine dayanan analiz cihazlarının, AAS, ICP-OES ve ICP-MS gibi elementel analiz tayini yapan cihazlara göre başlıca avantajlarından bir tanesi oluşturmaktadır.

Genel olarak lüminesans ölçümleri için kullanılacak sistemlerin;

- Reaksiyon hücresi,
- Işık geçirmeyen kap, belirteçlerin ve/veya örneklerin reaksiyon kabına aktarılması ve karıştırılması için kullanılan cihazlar,
- Işık detektörleri,
- Veri ve sinyal işleme sistemi,

bölgülerinden oluştuğunu söyleyebiliriz. Lüminesans ölçümlerinde, ışık şiddetinin algılanmasına dayanan analitik ölçüm yapan sistemlerin kritik kısmını oluşturan detektörler; a) farklı şiddetteki ışık sinyallerini algılayabilmelidir, b) en az 400-600 nm arasındaki bölgeye duyarlı olmalıdır, c) çıkış sinyali dedektöre ulaşan ışık şiddeti ile doğrudan ilişkili olmalıdır, ve d) dedektörün tepki hızı lüminesans reaksiyon oranından daha hızlı olmalıdır (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

Bu sistemler de, ışık şiddetinin algılanması için kullanılan detektör yapılarına alternatif olarak görüntü sensörlerini kullanmakta mümkündür. Işık şiddetine duyarlı detektörler, ışık şiddeti ile orantılı bir çıkış sinyali üretirken, görüntü sensörleri bunun yanında reaksiyon sonucu oluşan emisyonun dalga boyu ile ilgili bilgiyi de verebilmektedir. Görüntü sensörlerinin, birçok algılama sisteminde kullanılan PMT'lere kıyasla başlıca avantajları için; ucuz olmalarından, ufak boyutta bulunmalarından ve düşük güç tüketimlerinden söz edilebilir (Ude et al., 2001).

D. W. Boomer ve arkadaşları 1987 yılında ICP-MS kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada çevresel örneklerdeki uranyum miktarı için en düşük limiti 0,1 ng/ml (0,1 ppb) olarak ve üst limitide (doğrusal değişen) 1000 ng/ml (1000 ppb) olarak raporlamışlar ve bu çalışmalarında klasik florimetrik metod ile kıyaslamalar vermişlerdir (Boomer and Powell, 1987).

Z. Karpas ve arkadaşları ise 1996 yılında gerçekleştirdikleri çalışmalarında taze ve içme sularındaki uranyum miktarını ICP-MS kullanarak herhangi bir ön seyreltme yapmadan analiz etmişlerdir ve bu örneklerdeki uranyum konsantrasyonu için deteksiyon limitini 0,15 ng/L olarak bulmuşlardır (Karpas et al., 1996).

GS Caravajal ve arkadaşları 1982 yılında yaptıkları çalışmada, İnce-Film X-Işını Floresans Spektrometri metodu ile doğal sularda uranyum konsantrasyonunu, bir takım kimyasal ön işlemlerden sonra tespit etmişlerdir. Bu çalışmalarında, 500 mL'lik örnekler için uranyum konsantrasyonunun deteksiyon limitini 0,4 mikrog/L'lik olarak bulmuşlardır (Caravajal et al., 1982).

M. Nargi ve arkadaşları da 1986 yılında gerçekleştirdikleri çalışmalarında, X-Işını Floresans Spektroskopi sistemini kullanarak deniz suyunda uranyumun tespiti için iki farklı kimyasal prosedürü birbiri ile kıyaslamışlardır. Yapılan çalışmada, ppb seviyesinde uranyumun ölçümü için iki prosedüründe kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir (Nagj et al., 1986).

Bu tez çalışmasında, sıvı örneklerdeki uranyum konsantrasyonunu ppb seviyesinde tespit etmek için bir elektronik sistem geliştirilmiştir. Uranyum ihtiva eden sıvı örneklerin, UV lazer ile uyarılması sonucu yaptıkları floresans emisyonunun şiddetinin algılanması için bir CMOS görüntü sensörü kullanılmıştır. Bu sensörden gelen sinyalleri bilgisayar ortamına aktarmak için MCU (Microcontroller Unit) kontrollü bir elektronik sistem geliştirilmiştir. Bu elektronik sistemden alınan şiddet verilerinin bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra işlenmesi, değerlendirilmesi ve saklanması işlemlerini yerine getirmek ve bu elektronik sistemi bilgisayar üzerinden kontrol etmek için MATLAB ortamında bir yazılım geliştirilmiştir (Özer and Aslani, 2012). Geliştirilen tüm bu sistem, ticari olarak satılan ledler ve uranyum içeren sıvı çözeltiler ile test edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Lüminesans

Üzerine gelen ışını absorplayan ve daha sonra emisyon yapan maddelere lüminesans madde adı verilir. Oluşan olaya ise lüminesans olayı denir. Lüminesans olayında, uyarılma enerjisi bir kimyasal reaksiyon sonucu ortaya çıkıyor ise, buna kemilüminesans denir. Bu kimyasal reaksiyon bir canlı içerisinde gerçekleşiyor ise (örneğin; ateş böceği), buna da biyolüminesans denir. Lüminesans olayı gerçekleştiği süreye göre floresans ve fosforesans diye iki şekilde ele alınır. Floresans, lüminesans olayının çok kısa sürede gerçekleştiği duruma denir. Uyarılmış singletten temel hale geçişte gerçekleşen ışımadır. Uyarıcı ışın kesildiğinde floresans olayı hemen durur. Absorplanan ışın anında yeni bir ışına dönüşür. Kimyasal analizlerde daha çok floresans kullanılır. Fosforesans ise lüminesans olayının daha uzun sürede meydana geldiği duruma denir. Uyarılmış tripletten temel hale geçişlerdeki ışımadır. Uyarıcı ışın kesildiğinde kendiliğinden ışıma uzun zaman (dakikalarca) sürebilir. Fakat tipik olarak saniye veya saniyenin kesirleri kadar sürer. Bu da bize fosforesans olayında, gelen enerjinin bir şekilde depolandığını, sonra yavaş yavaş ışın halinde harcandığını gösterir (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

2.2 Floresans Spektroskopisinin Tanımı

Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında soğurulan veya yayımlanan elektromanyetik ışımının ölçülmesi ve yorumlanmasıdır (Ender ve Sarıkaya, 2007). Elektromanyetik ışıma, hem dalga hem tanecik özelliğine sahiptir. Girişim ve kırınım davranışları dalga özelliği ile açıklanır. Bir metal yüzeyinden ışıma ile elektronların koparılması (fotoelektrik olay), ışıma enerjisinin bir madde tarafından soğurulması ve emisyonu olayları, ışımının tanecik özelliği (foton) ile açıklanır (Beiser, 1997).

Moleküler floresans spektroskopisi, optik yöntemlerden biri olan spektrofotometri ile ilgili analitik bir yöntemdir. Üzerine uygun dalga boyunda ışın yollanan molekül bu enerjiyi 10^{-15} saniye gibi çok kısa bir sürede soğurarak uyarılmış duruma geçmektedir. Bu uyarılmış durumda molekül kararsızdır. Uyarılmış haldeki molekül, fazla enerjisinin bir kısmını yada tamamını kaybetmeden, ancak 10^{-7} - 10^{-8} saniye kadar bu halde kalabilir. Uyarılmış durumundaki birçok molekül fazla enerjilerini komşu moleküller ile çarpışarak ısısal dağıtma ile harcar. Bazı moleküller ise bu fazla enerjilerini ışığa yaparak harcar ve temel duruma dönerler. Soğurulmuş ışının yeniden yayılması genel olarak fotoluminesans veya lüminesans olarak tanımlanır (Lakowicz, 2006).

Fotoluminesans, floresans veya fosforesans emisyonu olmak üzere iki şekilde olabilir:



Molekülün uyarılmış durumundan temel duruma dönüş şekline göre floresans veya fosforesans emisyonu oluşur. Bir molekül gelen enerjiyi soğurarak temel elektronik durumdan uyarılmış duruma geçer. Molekül uyarılmış durumda iken titreşimsel enerjisinin fazlasını moleküller arası çarpışmalarla dağıtır. Daha sonra molekül temel enerji seviyesine ya doğrudan bir ışın yayıp floresans oluşturarak veya bir triplet seviyeye geçtikten sonra bir ışın yayarak döner. Bu seviyeden yayılan ışına da fosforesans denir.

Bu iki ışın yayma olayının ortaya çıkması için geçen zaman farklıdır. Floresans emisyonu, molekülün enerjiyi soğurmasından hemen sonra (yaklaşık 10^{-4} - 10^{-8} saniye de) olur. Fosforesans emisyonu ise daha yavaş ($> 10^{-4}$ s) ortaya çıkar. Bu nedenle floresans gösteren bir çok madde de, enerji kaynağı uzaklaştırıldıktan sonra emisyon görülmezken, fosforesans gösteren maddeler ışığa devam edebilirler.

Yöntemin en önemli üstünlüğü, absorpsiyon yöntemine kıyasla çok daha az miktarlardaki maddelerin analizinin yapılabilmesi, yani duyarlılığıdır. Ayrıca floresans gösteren maddelerin çok fazla sayıda olmaması yöntemin seçiciliğini diğer yöntemlere kıyasla arttırmaktadır. Fakat diğer taraftan bu son özellik yöntemin uygulama alanını sınırlı tutmaktadır.

2.3 Floresans Oluşumunun Prensipleri

Genellikle temel durumda yani en düşük enerjili halde tüm elektronları çiftleşmiş halde bulunan moleküller floresans veya fosforesans emisyonu yapmaktadır. Moleküler floresans olayı moleküldeki bağ elektronlarının, özellikle π bağı elektronlarının bir foton ile etkileşmesinden oluşmaktadır. Çiftleşmiş spinli elektronların moleküler elektronik durumu, singlet hal olarak adlandırılır. Uyarılmış elektronlar en düşük enerjili temel singlet durumdadır ve spinleri birbirine zıttır. Gönderilen elektromanyetik ışınımın enerjisi molekülün temel durumu ile uyarılmış durumu arasındaki farka eşdeğer ise elektronların biri veya birkaçı bu enerjiyi soğurur ve temel durumdan uyarılmış singlet duruma yükselir. Elektronik seviyeler arasındaki enerji farkı uv veya görünür alandaki enerjilere eşdeğer olduğundan, enerji seviyeleri geçişlerine neden olan alan bu alandır. Bu geçiş sırasında elektronların spininde bir değişiklik olmaz, spinleri aynı yönde kalır. Uyarılmış singlet hale yükseltilmiş elektronun spini, temel durumdaki elektronun spini ile çiftleşmiş halde kalır, sistemler arası bir geçiş olmaz.

Uyarılmış triplet durumunda ise elektronlardan birinin spini yön değiştirir. Aynı kuantum sayılı iki elektron bir orbitalde bulunamayacağından yeni bir orbitale yükselir. Uyarılmış triplet durumda elektronların spinleri çiftleşmemiştir, paralel haldedir. Triplet seviyeye düşmek üzere spinini ters döndüren elektron bu iş için bir enerji harcamıştır. Bu nedenle triplet durumunun enerjisi singlet durumunkinden biraz daha düşüktür. Singlet temel durumdan doğrudan doğruya uyarılmış triplet duruma geçiş olmaz. Ancak uyarılmış singlet durumdan uyarılmış triplet durumuna geçiş olabilmektedir. Uyarılmış triplet durumda elektronun spininin başlangıçtaki yönüne dönmesine bir direnç oluştuğundan bu durumun ömrü uyarılmış singlet halin ömründen daha uzun sürmektedir.

Şekil 2.1’de fotoluminesans gösteren bir molekülün kısmi enerji diyagramı görülmektedir. En alttaki yatay çizgi S_0 , molekülün temel durumunun enerjisini bildirmektedir. Çözeltideki tüm moleküller oda sıcaklığında bu enerji durumundadır. S_1 ve S_2 birinci ve ikinci uyarılmış singlet durumlarıdır ve T_1 ise birinci uyarılmış triplet durumdur. Birinci uyarılmış triplet durumun enerjisi eşdeğer singlet durumun enerjisinden daha düşüktür. Çok sayıdaki titreşimsel enerji seviyeleri de şekil 2.1’de gösterilmiştir. Molekülün uyarma dalga boyu, λ_1 ve λ_2 gibi iki farklı dalga boyundaki ışının soğurumu ile oluşmuştur. Daha yüksek enerjili λ_2 dalga boylu ışının soğurumu ile daha yüksek enerjili S_2 uyarılmış singlet duruma geçerken ($S_0 \rightarrow S_2$) daha uzun dalga boylu λ_1 ışınının soğurumu ile daha düşük enerjili S_1 , uyarılmış singlet duruma geçiş ($S_0 \rightarrow S_1$) olmaktadır. Bu soğurum ile uyarılmış singlet durumun çeşitli titreşimsel seviyelerine geçiş olabilmektedir. Molekül önce çözücü molekülleri ile çarpışmalar gibi bazı ışınmasız yollar ile yaklaşık 10^{-13} s’de uyarılmış singlet durumun en düşük enerjili titreşimsel seviyesine iner. Temel duruma dönme, molekülün ve dış koşulların durumuna bağlı olarak ışınmasız veya ışına yaparak olabilir. Işıma, floresans veya fosforesans emisyonu olmak üzere iki farklı şekilde olabilmektedir (Robinson, 2002). Molekülün temel hale geçişte seçtiği yol uyarılmış halin en kısa süreli olduğu yoldur. Yani eğer floresans emisyonunu gerçekleştirme işlemi, ışınmasız yola kıyasla daha çabuk oluyorsa molekül floresans emisyonu gerçekleştirir. Işınmasız yol daha hızlı ise ışın emisyonu ya çok azdır veya yoktur. Eğer uyarılmış singlet hal nispeten dayanıksızsa molekül temel duruma genellikle emisyon yapmaksızın döner. Temel duruma dönmenin dışında uyarılmış veya temel durumların çeşitli titreşimsel seviyelerinden en düşük seviyeye inişlerde yada bir uyarılmış singlet halden bir başkasına veya uyarılmış triplet hale geçişte de ışınmasız enerji kayıpları olmaktadır.

Işıma yapmaksızın ortaya çıkan başlıca enerji kaybı işlemleri şunlardır:

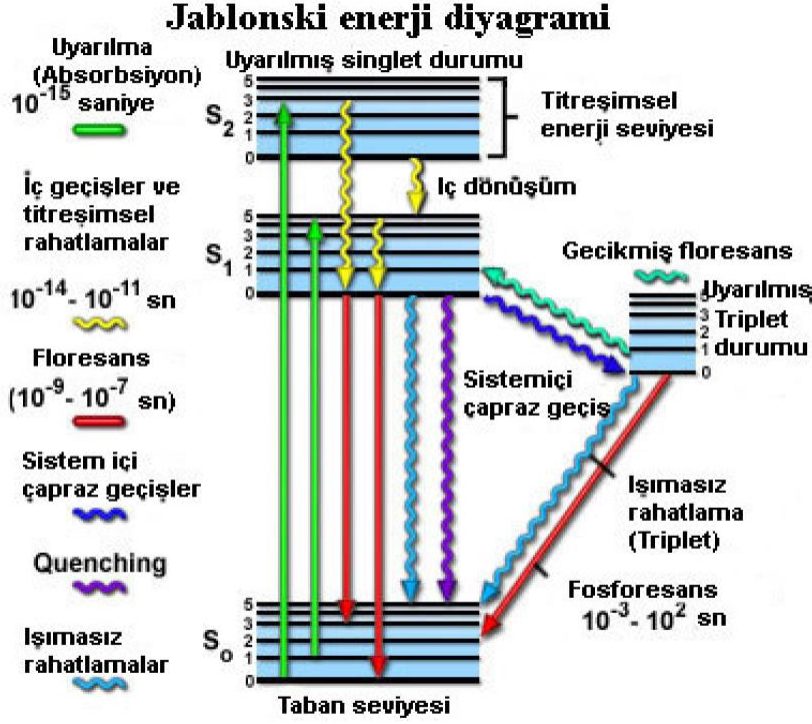
- 1- Titreşimsel dinlenme
- 2- İç dönüşüm
- 3- Sistemler arası geçiş
- 4- Enerji nakli

1- Titreşimsel dinlenme, uyarma işlemi ile herhangi bir titreşimsel seviyenin çarpışması sonucu titreşimsel enerjinin fazlasının derhal kaybedildiği ve uyarılmış halin en düşük enerji seviyesine geçişin olduğu durumdur. Bu olay sonucunda ısı oluşur. Çözeltilerin sıcaklığı artar. Herhangi bir yol ile temel durumdan bir titreşimsel seviyeye geçiş olduğunda bu geçiş olduktan sonra bu seviyelerden en düşük titreşimsel seviyeye geçiş yine titreşimsel dinlenme işlemi ile olmaktadır.

2- İç dönüşüm ile elektronik durumun titreşimsel seviyelerinin aynı olması halinde iki uyarılmış durumun potansiyel enerjileri aynıdır. Bu durumda aynı enerjili titreşimsel seviyeler arasında bir geçiş olur. Şekil 2.1’de görüldüğü gibi molekül λ_2 emisyonunu soğurarak S_2 uyarılmış singlet durumuna, uyarılmadan sonra bir seri titreşimsel dinlenmeler ile S_2 durumunun en alt titreşimsel seviyesine ve buradan da bir iç dönüşüm ile S_1 uyarılmış singlet halin ara titreşimsel seviyesine geçmektedir. Daha sonra buradan yine titreşimsel dinlenme ile S_1 halinin en düşük titreşimsel seviyesine iner. Böylece daha yüksek bir elektronik halden daha düşük uyarılmış singlet halin en düşük titreşimsel seviyesine geçiş olmaktadır. İç dönüşüm işlemi sonucunda elektronun spini aynı yönde kalır.

3- Sistemler arası geçiş (şekil 2.1), uyarılmış singlet durumdan triplet durumuna geçişlerdir. Bu işlem sırasında elektronun spini değişir. İç dönüşümde olduğu gibi bu olay iki durumun titreşimsel enerjilerinin aynı olması halinde gerçekleşir. Oksijen gibi paramagnetik türlerin varlığı da sistemler arası geçişi arttırmakta, floresans oluşumunu azaltmaktadır.

4- Enerji Nakli işlemi, uyarılmış durumdaki bir molekülün fazla enerjisini bir alıcı moleküle doğrudan doğruya ve ışığa yapmaksızın aktararak normal duruma dönmesidir (Lakowicz, 2006).



Şekil 2.1 Jablonski enerji diyagramı (Molecular Expressions, 2013).

2.4 Floresansı Etkileyen Faktörler

Bir bileşiğin floresans emisyonu gerçekleştirip gerçekleştirmemesi ve floresans ışınının şiddeti, hem moleküler hem de kimyasal çevreye bağlıdır. Bu faktörlerden bazıları aşağıda açıklanmaya çalışılmıştır.

YAPISAL FAKTÖRLER

Bir molekülün floresans gösterebilmesi için ilk koşul UV veya görünür alandaki ışınımı soğurmasıdır. Bu soğurum ne kadar yüksek olursa yayılan floresansın şiddeti o kadar kuvvetli olur. Basit alifatik yapılu bileşikler soğurdukları enerjini ışın yaymaksızın harcarlar ve floresans göstermezler. Ketonlar, aldehitler, karboksilli asitler, amidler, esterler gibi π bağlı hetero atom içeren bileşikler az floresans gösterirler. Polienler ve aromatik bileşikler ve türevleri ise floresans gösteren bileşiklerdir. Özellikle bunların düzlemsel ve katı yapıda olanlarının floresans etkinliği yüksektir. Benzenin kendisi zayıf floresans gösterir. Benzen halkasının sübtütüsüyonu ise floresansı olumlu ya da olumsuz etkiler (Lakowicz, 2006).

MOLEKÜLER KATILIK

Moleküler katılık, hareket serbestliğini azalttığından, triplet duruma sistemler arası geçişler ve moleküller arası çarpışmalar gibi ışın yaymadan geçiş olasılıkları azdır. Örneğin; Fluoresein çözelti içinde kuvvetli floresans göstermesine karşılık moleküler katılık göstermeyen fenolftaleinin böyle bir özelliği yoktur (Lakowicz, 2006).

SICAKLIK VE VİSKOZİTE ETKİSİ

Sıcaklığın artması ve çözücünün viskozitesinin azalması, uyarılmış molekül ile diğer moleküllerin çarpışması ve ayrıca sistemler arası geçişlerin olasılığını arttırmaktadır. Düşük sıcaklıkta ve yüksek viskoziteli ortamda ise dinlenme zamanı uyarılmış durumun ömründen daha uzun olmakta ve floresans artmaktadır (Lakowicz, 2006; PerkinElmer, 2000).

ÇÖZÜCÜ ETKİSİ

Kullanılan çözücüler floresans şiddetinin veya floresansın görüldüğü dalga boyunun değişmesine neden olabilir. Çözücünün genellikle uyarılmış durumundaki moleküller ile hidrojen bağı oluşturması temel hale ışımsız dönüş işleminin hızını arttırdığından floresansın şiddetinde azalma olur. Dolayısıyla, -OH, -COOH, -NH₂ bağı oluşturabilecek gruplar içeren maddelerin analizinde çözücü seçimine dikkat edilmelidir.

Yapılarında bir veya daha çok sayıda, atom ağırlığı büyük olan element içeren çözücüler, sistemler arası geçiş olasılığını arttırdıklarından floresansı azaltırlar (Lakowicz, 2006).

pH ETKİSİ

Asidik ve bazik grup içeren bir bileşiğin floresansı ortamın pH'sine bağlıdır. Örneğin; nötr ortamda fenol floresans gösterirken, bazik ortamda floresans etki göstermeyen anyonuna dönüşür.

Anilin, nötr ve bazik ortamda iken görünür bölgede floresans gösterir. Çözelti asitlendirildiğinde floresans kaybolur. Bu şekilde ortamın pH'sine bağlı olarak floresans gösterebilen moleküllerden asit-baz titrasyonlarında indikatör olarak yararlanılabilir (PerkinElmer, 2000).

2.5 Floresans Şiddeti ile Derişim Arasındaki İlişki

Bir molekülün floresans etki gösterebilmesi için önce üzerine gönderilen emisyonu soğurması gerekmektedir.

Floresans emisyonunun şiddeti maddenin derişimi ile (düşük derişimlerde) doğru orantılıdır. Yüksek derişimlerde gelen ışının tümü çözeltinin ilk tabakaları tarafından soğurulur ve çözeltinin uzak kısımlarına ulaşamaz.

Beer yasasına göre, çözeltiden geçen ışının soğurulan ışına oranı (T) (PerkinElmer, 2000),

$$T = I_t/I_0 = e^{-abC} \quad (2.1)$$

I_0 : Gelen ışının şiddeti

I_t : Geçen ışının şiddeti

a : Molar soğurma katsayısı

b : Tabaka kalınlığı

C : Derişim

şeklinde ifade edilir.

Ölçülen floresans ışınının şiddeti I_t , soğurulan ışının miktarına I_{ab} 'ye bağlıdır. I_t aşağıdaki bağıntı ile ifade edilir.

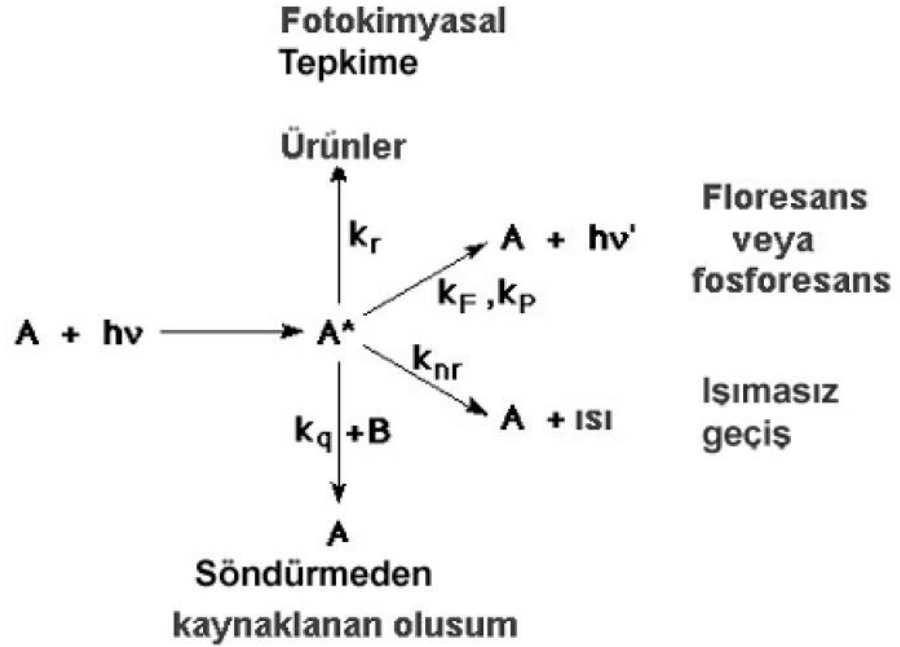
$$I_t = k \cdot Q_f \cdot I_{ab} \quad (2.2)$$

I_{ab} : b tabaka kalınlığında soğurulan ışının şiddeti

k : Kullanılan alete ait bir sabittir. Floresans yayma her yöne olmasına rağmen ancak belirli bir bölümü ölçülebilmektedir. Bu nedenle k , ölçülen fotonların yayılan fotonlara oranıdır.

Q_f : Floresans kuantum verimi olarak bilinir ve belirli bir ışık soğurumu sonucu yayımlanan foton sayısının soğurulana oranıdır (Robinson, 2002).

$$Kuantum\ Verimi = \frac{Floresans\ Gösteren\ Atom\ Sayısı}{Toplam\ Uyarılmış\ Atom\ Sayısı} \quad (2.3)$$



Şekil 2.2 Molekül üzerine düşen enerjinin dağılımı (Şener, 2006).

A : Örnek,

B : Söndürme sonrası örnek,

A^* : Uyarılmış örnek

h : Plank sabiti

ν : Frekans

ν' : Enerji salınımı sırasındaki frekans,

k : kuantum sayısı

Floresans ışınının şiddeti ile floresans emisyonu yapan maddenin derişimi arasında çizilecek grafik düşük derişimler için doğrusaldır.

Floresans emisyonunun şiddeti;

a) gelen ışının şiddetine doğrudan bağlıdır. Gelen ışının şiddetinin arttırılması ile duyarlılık kolayca arttırılabilir. Fakat gelen ışının şiddeti arttırıldıkça çözücü ve bazı kirliliklerden oluşan fotodekompozisyon olabilir. Bu durum da floresans emisyonunun şiddetinin artmasına yol açar.

b) molar soğurum katsayısı ile orantılıdır. Bu nedenle uyarma ışınının dalga boyunun, maksimum soğurum dalga boyunda olması gereklidir (Rendell, 1987).

c) kantitatif analiz çalışmalarında analiz edilen maddenin bilinen derişimlerindeki çözeltilerinin floresans değerleri ölçülür ve standart maddelerinkine oranlanır. Derişim ile bunlara eşdeğer bağıl floresans şiddetleri arasında çizilen eğri yardımıyla bilinmeyen derişim bulunur. Tüm ölçümlerde uyarma kaynağı, çözücü, sıcaklık, pH vb. deney koşulları aynı olmalıdır. Bu koşullar floresans emisyonunun şiddetine etki etmektedir.

Yayımlanan floresans ışınının çözeltideki bileşenler tarafından soğurulması nedeniyle şiddetinin azalması olayına SÖNÜMLEME (QUENCHING) denir. Maddenin kendi kendini sönmemesi olayına çevreye bağıl sönmeye (self quenching) denir. Derişimin artması ile bu durum ortaya çıkar (Brand and Johnson, 2006).

Sönümlenme, uyarılmış durumdaki moleküllerin safsızlık olarak bulunan yabancı moleküller ile çarpışması sonucu ışısız enerji kaybı ile de olabilir. Ayrıca ortamda bulunan çözülmüş oksijen, ağır metaller veya para-magnetikler sistemler arası geçiş hızını etkilediklerinden sönmeye neden olabilirler.

Sıcaklık ve pH değişimleri de sönmeye neden olabilir. Maddenin uzun süre uv ışına maruz bırakılması sonucu, fotokimyasal reaksiyon olabileceğinden floresans azalır.

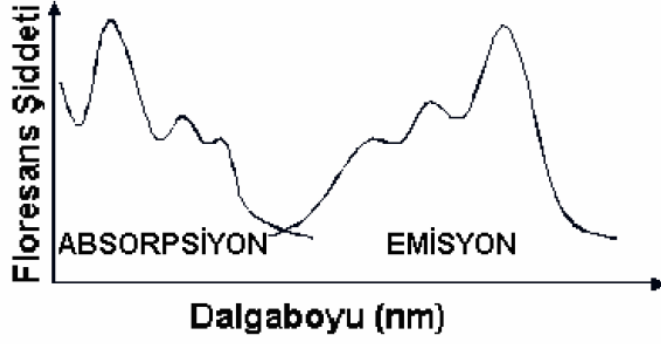
2.6 Floresans Yayma Yönü (Şener, 2006)

Floresans, solüsyonun içerisinde her yöne doğru olduğundan herhangi bir yönden ölçülebilir. Fakat en çok kullanılan yön gelen ışın ile 90^0 açı oluşturan yöndür. Böylece uyarma kaynağının doğrudan doğruya aydınlattığı küvet yüzeyinden olabilecek floresans yayılması veya ışın yansımaları yayılım monokromatörüne gelmez. Frontal yöntemde floresans ölçümü 37^0 açıdan yapılır. Genellikle derişimi yüksek çözeltiler ve opak örnekler ile çalışılırken bu yöntem tercih edilir.

Floresans ışının şiddeti gelen ışının şiddetine bağlı olduğundan ışık kaynağının kuvveti önemlidir. En çok kullanılan ışık kaynakları, civa ark lambası veya ksenon ark lambasıdır. Ksenon lamba değişik dalga boylarında çok fazla değişmeyen bir yayılım gösterirken, civa lamba belirli dalga boylarında yüksek şiddette bandlar halinde yayılım yapmaktadır. Ksenon lamba genellikle farklı dalga boylarında çalışıldığında tercih edilir. Civa lamba ile daha hassas analizlerin yapılması mümkündür.

2.7 Floresans Emisyonunda Ayna Görüntüsü

Bir molekülün absorpsiyon spektrumu elektronik olarak uyarılmış halin titreşim seviyelerini yansıtmaktadır. Çoğunlukla elektronik uyarma, titreşim seviyelerinin yerlerini değiştirmez. Bu nedenle, emisyon spektrumu molekülün absorpsiyon spektrumunun ayna görüntüsüne çok yakındır (Lakowicz, 2006).



Şekil 2.3 Floresans emisyonunun ayna görüntüsü (Lakowicz, 2006).

2.8 Floresans Ömrü ve Kuantum Verimi

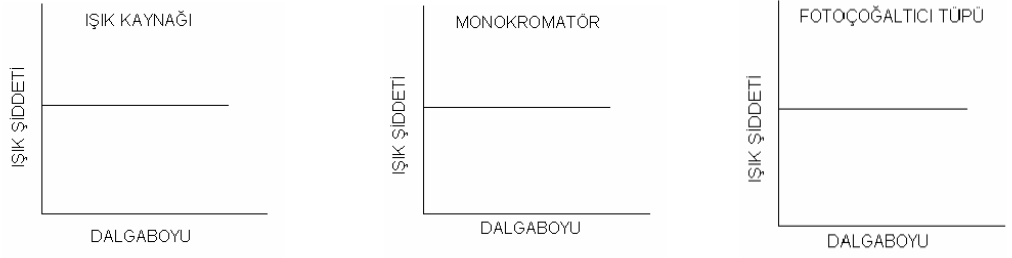
Floresans özellikli maddenin uyarılmış halde kalma süresi floresans ömrü olarak adlandırılır. Emisyonun yüksek hızla gerçekleştiği floresans ömrü 10^{-8} - 10^{-9} s kadardır. Kuantum verimi ise birim zamanda yayınlanan foton sayısının, absorplanan foton sayısına oranına denir. Başka deyişle, çözeltildeki floresans gösteren moleküllerin sayısının, toplam uyarılmış molekül sayısına oranıdır. Örneğin floresans boya olan Fluorescein'in kuantum verimi yaklaşık olarak 1'e yakındır. Kuvvetli bir floresanttır. Bunun aksine floresant olmayan türlerin kuantum verimi ise sıfırdır (Lakowicz, 2006).

2.9 İdeal Spektroflorimetreler

Her dalgaboyu aralığında relatif foton şiddetini gösteren emisyon ve uyarmayı kaydetmek isteriz. Böyle düzeltilmiş emisyon spektrumu için elde edilen bileşenler aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır:

1. Işık kaynağı bütün dalgaboylarında sürekli foton çıkışı sağlamalıdır.
2. Monokromatör eşit verim ile bütün dalgaboylarını içeren fotonları geçirmelidir.
3. Monokromatör verimi polarizasyondan bağımsız olmalıdır.
4. Kullanılan dedektör veya görüntü sensörü eşit verim ile bütün dalgaboylarını içeren fotonları dedekte etmelidir.

İdeal optik bileşenler için bu karakteristikler Şekil 2.4'de gösterilmiştir. Maalesef, böyle ideal karakteristiklere sahip ışık kaynakları, monokromatörler ve dedektörler veya görüntü sensörleri mevcut değildir. Sonuç olarak, bileşenler için uygun seçimler yapılır. Cihazın ideal olmayan cevabı için de düzeltme yapmak gerekir (Lakowicz, 2006).



Şekil 2.4 Floresans spektrometre cihazını oluşturan birimlerin ışık şiddeti ve dalgaboyuna bağlı kıyaslaması (Lakowicz, 2006).

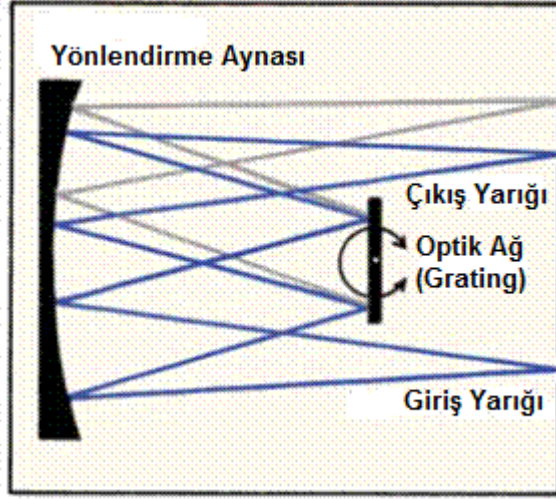
Aynı dalgaboyunda, aynı bileşenler ile bu kıyaslanabilir ölçümler gerçekleştirilir. Bundan dolayı karşılaştırmalı ölçümlerde bileşenlerin ideal olmayan davranışları iptal edilir. Absorpsiyon ölçümlerine karşı, floresans şiddeti ölçümleri kesindir. Bundan dolayı, boşluk ile örneğin floresansının kıyaslanması ideal olmayan durumların iptal edilmesine yardımcı değildir. Çünkü boşluk prensipte hiç sinyal vermez. Aynı zamanda zayıf arka plan sinyali bilinmeyen spektral dağılıma sahiptir. Bu sebepten dolayı optik bileşenlerin dalgaboyuna bağlılığının düzeltilmesi için kullanılmaz (Lakowicz, 2006).

Spektroflorimetreler içinde bulunan ışık geçirmeyen odacık ve örnek odası ile yine bu cihazlar içinde analiz esnasında kullanılan reaksiyon hücrelerinin de bu cihazlar ile yapılan ölçümlerde önemi büyüktür.

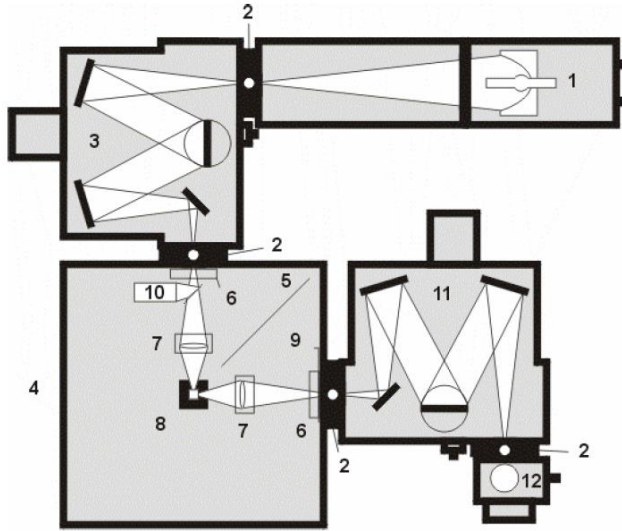
2.9.1 Monokromatör

Giriş slitine gelen geniş spektrumlu ışığı spektrumuna ayırarak, çıkış slitine istenen tek dalgaboylu ışığı sağlayan optik cihaza monokromatör denir. Spektrumun taranmasını gerçekleştirir. Şekil 2.5'de de gösterildiği gibi dört ana kısımdan oluşur; giriş sliti, aynalar, kırınım ağı ve çıkış sliti (Lakowicz, 2006). Şekil 2.6'da da bir floresans spektrometre cihazının optik krokisi verilmiştir.

Cihaz Şekil 2.6’da numaralandırılan şu kısımlardan meydana gelmektedir: (1) Lamba yuvası, (2) Ayarlanabilir slitler, (3) Uyarma monokromatörü, (4) Örnek kompartmanı, (5) Saptırıcı, (6) Filtre tutucular, (7) Uyarma/emisyon optikleri, (8) Küvet tutucu, (9) Emisyon shutter, (10) Uyarma düzeltme, (11) Emisyon monokromatörü, (12) PMT dedektörü (Battal, 2006).



Şekil 2.5 Tipik bir monokromatör.



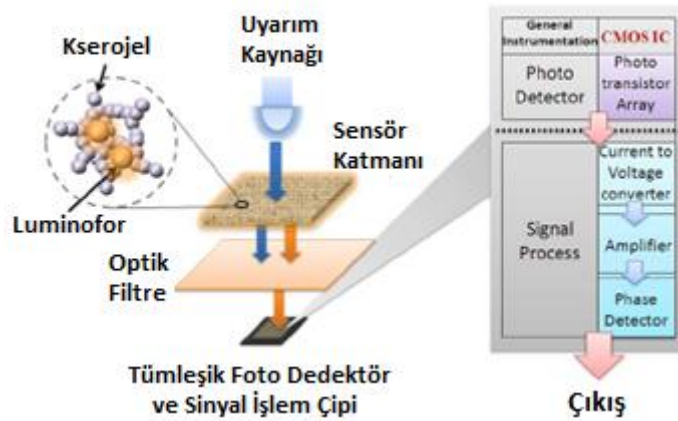
Şekil 2.6 Floresans spektrometre cihazının optik kroski.

2.9.2 Işık şiddetinin algılanmasında kullanılan yapılar

Son yıllarda lüminesans olaylarının belirlenmesi için yeni temel teknikler geliştirilememekle birlikte, mikroelektronik ve optoelektronik alanlarında gelişen teknolojiler ile birlikte CCD ve CMOS görüntü sensörleri ve fiberoptikler de artan performansları ve kolay kullanımları ile bu alanda gelişen enstrümantasyon piyasasına dahil olmuşlardır (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

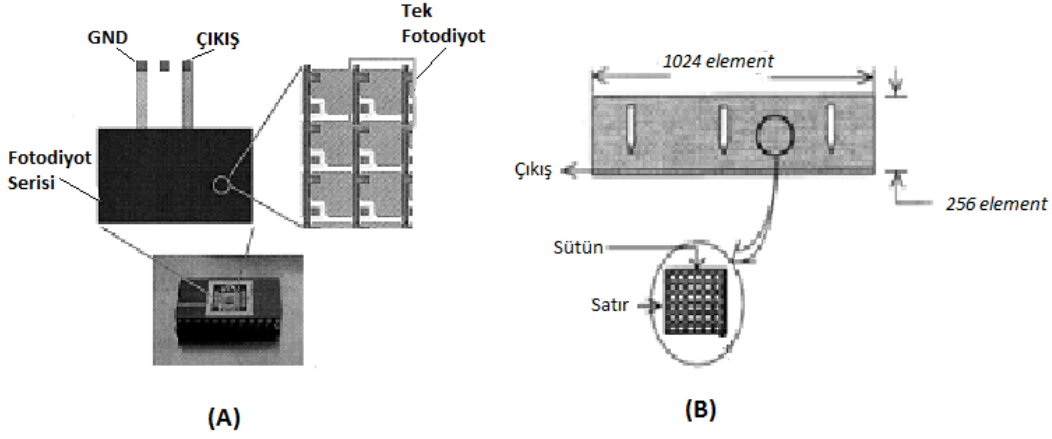
Lüminesans olayının algılanmasında kullanılan temel enstrümanların kritik kısmını oluşturan dedektörler de, gelişen teknoloji ile farklılık göstermiştir. Günümüzde lüminesans olayının algılanması için kullanılan bir çok sistemde emisyon şiddetini algılayan yapılar arasında PMT'ler gibi klasik dedektör yapılarının yanı sıra CMOS ve CCD görüntü sensörleride kullanılmaktadır (Garcia-Campana and Baeyens, 2001; Ude et al., 2003; Baoxin et al., 2006).

Şekil 2.7 de CMOS görüntü sensörü kullanan bir lüminometri sisteminin blok yapısı gösterilmiştir (Lei et al., 2009).



Şekil 2.7 Bir lüminometri sisteminin blok yapısı.

Şekil 2.8 de CCD ve CMOS görüntü sensörlerinin blok yapıları gösterilmiştir (Garcia-Campana and Baeyens, 2001). CMOS görüntü sensörleri, PMT'ler ile kıyaslandığında düşük fiyatları, ufak boyutları ve düşük güç tüketimleri ile öne çıkmaktadır (Ude et al., 2001).



Şekil 2.8 CMOS görüntü sensörü (A) ve CCD görüntü sensörü (B).

Lüminesans ölçümü yapan bu sistemlerin kritik kısmını oluşturan bu yapılar için 4 temel öneri vardır. Bunlar;

- Farklı şiddetteki ışık sinyallerini algılayabilmelidir.
- En az 400-600 nm arasındaki bölgeye duyarlı olmalıdır. Eğer dedektör veya görüntü sensörü değişik dalga boylarına karşı duyarlılık gösterirse bu daha doğru veri almayı mümkün kılar.
- Çıkış sinyali dedektöre veya görüntü sensörüne ulaşan ışık şiddeti ile doğrudan ilişkili olmalıdır. Bu durum dedektöre veya görüntü sensörüne gelen sinyalin daha kolay görüntülenmesini, kaydedilmesini ve analiz edilmesini sağlamaktadır.
- Dedektör veya görüntü sensörünün tepki hızı lüminesans reaksiyon oranından daha hızlı olmak zorundadır. Bu şartın sağlanması durumunda çıkış sinyali düzgün bir şekilde elde edilebilir.

şeklinde sıralanabilir (Garcia-Campana and Baeyens, 2001). Bazı detektör ve görüntü sensörü türleri algıladıkları ışığın dalga boyu aralıklarına göre çizelge 2.1 de sıralanmıştır;

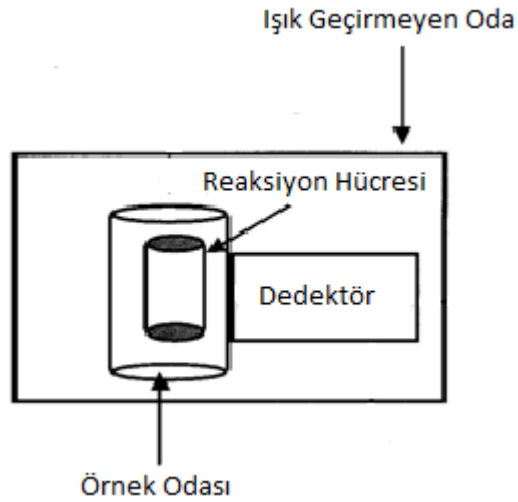
Çizelge 2.1 Bazı detektör ve görüntü sensörü türleri

	DETEKTÖR	GÖRÜNTÜ SENSÖRÜ
<i>UV - GÖRÜNÜR BÖLGE</i>	PMT	CMOS CCD
<i>NIR BÖLGE</i>	InGaAS PbS PbSe	InGaAS PbS PbSe

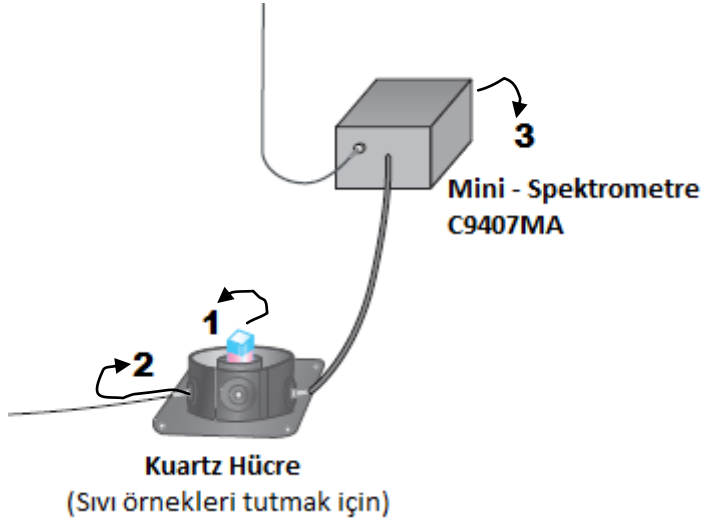
2.9.3 Işık geçirmeyen odacık, örnek odası ve reaksiyon hücresi

Lüminesans ölçümü yapan bir sistemin temel kısımlarını oluşturan bu bölümler (ışık geçirmeyen odacık, örnek odası ve reaksiyon hücresi), üretici firmaların inisiyatiflerine göre, bu sistemlerin içerisinde birbirlerine bağımlı olabildikleri gibi zaman zaman birbirlerinden bağımsız olarak da bu sistemler ile birlikte kullanılabilirler.

Şekil 2.9 ve Şekil 2.10'da bu sistemler için iki farklı durum gösterilmeye çalışılmıştır (Garcia-Campana and Baeyens, 2001; Hamamatsu, 2008).



Şekil 2.9 Temel bir luminometrede ışık geçirmeyen odanın, reaksiyon hücresinin ve örnek odasının bir arada kullanımı.



Şekil 2.10 Işık geçirmeyen odanın, reaksiyon hücresinin ve örnek odasının birbirinden bağımsız kullanıldığı bir luminometre yapısı.

Şekil 2.10’da 1 numaralı kısım reaksiyon hücrecini, 2 numaralı kısım reaksiyon hücrecinin içinde konumlandırıldığı örnek odasını ve 3 numaralı kısımda bu sistemde ışık şiddetinin algılanmasında kullanılan yapı için ışık geçirmeyen odayı (housing) temsil etmektedir. Şekil 2.10’daki yapı için ise Hamamatsu firmasının üretmiş olduğu C9407MA kodlu RC serisi mini-spektrometre ve bu spektrometrenin uygulamaları örnek verilebilir (Hamamatsu, 2008).

Lüminometrelerde kullanılan örnek odaları şu özellikleri sahip olmalıdır; a) genellikle bu sistemlerin ışık geçirmeyen odaları içerisinde bulunan bu kısım, reaksiyon hücrecini lüminesans örneğine ve lüminesans olayını algılayıcı yapıya tutturur (Bkz. Şekil 2.9 ve Şekil 2.10), b) bu oda genel olarak ortam ışığını muhtemel girişimleri minimuma indirecek şekilde mühürlenmelidir, c) bu oda, ışık şiddetini algılayıcı yapı ile maksimum optik verim mümkün olacak şekilde ayarlanmalıdır (yerleştirilmelidir), d) Ek olarak ayna, lens veya başka cihazlar da bu optik verimi arttırmak ve optimum S/N (signal / noise = sinyal / gürültü) oranını sağlamak için kullanılabilir (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

Işık geçirmeyen oda ise, lüminometrelerde genellikle örnek ve belirteçlerin birbirine karışımını daha sağlıklı bir ortamda (Işık almayan bir ortamda) sağlamak ve bununla birlikte de ışık bilgisinin algılanmasını sağlayan yapıyı (Detektörü, görüntü sensörünü, photocell'i...) harici ışık kaynaklarından izole etmek için kullanılmaktadır (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

Lüminometreler ile birlikte kullanılacak reaksiyon hücreleri için önerilen dizayn şu şekildedir:

- ışık bilgisinin algılanmasını sağlayan yapı önünden örnek ve belirteçler sürekli akarken maksimum şiddetin elde edilmesine imkan tanımalıdır,
- genellikle görünür bölgedeki ışığı geçiren ve örnekle uyumlu herhangi bir materyal kullanılmalı (art ortamın seviyesine katkıda bulunan statik elektrik biriktirebilmesi nedeniyle polyeşterden yapılan malzemeler önerilmez),
- detektöre mümkün oldukça yakın konumlandırılmalıdır ve yayınlanan ışığın büyük bir kısmını toplamak için geniş bir hacme sahip olmalıdır (Garcia-Campana and Baeyens, 2001).

2.10 Floresans Spektrometrenin Uygulama Alanları

Floresans spektroskopisinin uygulama alanları şunlardır:

- Floresans,
- Fosforesans,
- Düşük konsantrasyonda miktar tayini,
- Biyoluminesans,
- Hücre içi konsantrasyon tayini,
- Protein miktar tayini,
- Molekülün üç boyutlu yapısı hakkında bilgi (açıldı veya yumaklandı),
- DNA bağlanmaları,
- Besin maddeleri, ilaçlar, klinik numuneler ve doğal maddelerin tayini.

Floresans metodların yüksek duyarlılığa sahip olmasından dolayı başarılı bir şekilde uygulanması açısından, kullanıcı cihazı kullanmayı iyi bilmeli ve deneysel detaylara dikkat etmelidir (Battal, 2006).

3. MATEYAL VE YÖNTEM

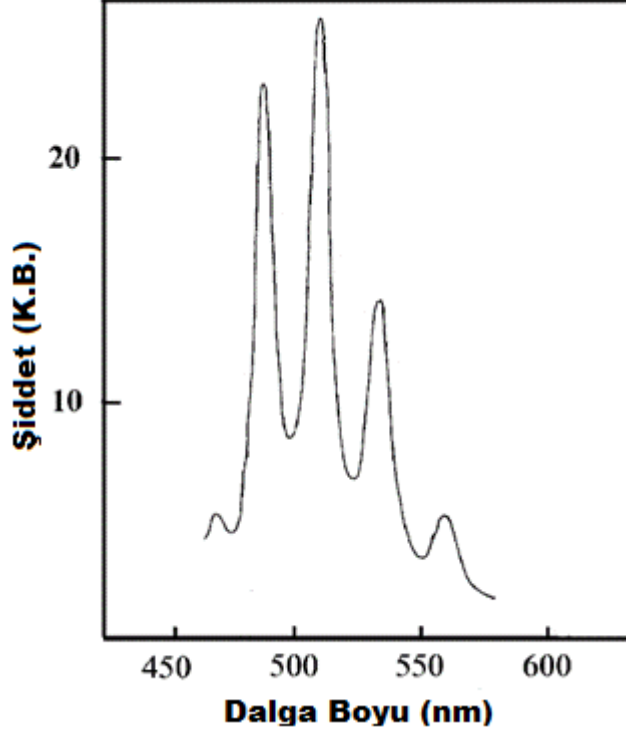
3.1 UA-3 Uranyum Analizörü (IAEA, 1992)

UA-3 uranyum analizörü sulu çözeltilerde, eser miktardaki uranyum ölçümleri için kullanılan kompakt, elektro-optik bir alettir. UA-3 cihazı ile yapılan ölçüm, analiz sırasında örneğe ilave edilen belirteçle oluşan uranil kompleksinin floresansına dayanır. Girişim yapabilecek birçok tür olmasına rağmen, örneğe bir ön konsantre etme işlemi veya muamele uygulamaksızın 0,05 ppb'den daha iyi bir duyarlılıkta uranyum analizi yapılabilmektedir.

İnorganik uranil tuzlarının farklı floresansı uzun süredir bilinmekte ve bilinen florimetrik analiz metodlarının temelini oluşturmaktadır. Ultraviyole uyarımı altında (UA-3 cihazında ultraviyole uyarımı azot lazer ile sağlanmaktadır), uranil tuzları uygun bir fotodetektör ile kantitatif olarak ölçülebilen yeşil bir lüminesans yayımlar. Emisyon spektrumu, sırasıyla 494, 516 ve 540 nm'de karakteristik olarak üç pik vermektedir. Uranil tuzlarının floresans spektrumu şekil 3.1'de gösterilmiştir. Birçok uranil tuzunun spektrumlarının genellikle bir birine benzemesi, koordinasyon yapan ligandın kuvvetli O-U-O bağları üzerine etkisinin az olduğunun bir göstergesidir.

UA-3'ün analitiksel işlemi, su örneklerinde bulunan çeşitli uranil türlerinin yüksek lüminesans verimine sahip olan tek bir forma dönüştürülmesi amacıyla tamponlanmış inorganik kompleks yapıcı bir belirteç olan FLURAN'ın ilave edilmesi ile gerçekleşir.

Uranyumun direkt florimetrik analizi sırasında örnekte bulunan diğer türler de floresans özellik gösterebilir ve böylece gerçek payı olmayan yüksek değerler ölçülebilir. Bununla birlikte, demir, mangan gibi uranil floresansının sönmelenmesine neden olan diğer bazı etmenler de bulunabilir.



Şekil 3.1 Uranyumun floresans spektrumu (Dmitri et al., 2002).

Doğal sularda bulunan eser miktarda uranyumun direkt analizlerinde en önemli girişim, çözülmüş organik karbondan gelmektedir. 1 ile 30-40 mg/l konsantrasyon aralığındaki çözülmüş organik karbonun başlıca hümik esaslı olmasından kaynaklanır. Bunlar, topraktan su sistemine özütlenmiş bitki materyallerinin bozulmasından oluşan, kompleks ve polimerik organik bileşiklerdir. 10-20 mg/l'den yüksek konsantrasyonlardaki çözülmüş organik karbon, bazı yüzey sularının sarı renklenmesine neden olur. Ultraviyole ve görünür ışık altında çözeltideki hümik asitler floresans özellik gösterir.

Birçok doğal su 337 nm dalgaboyundaki azot lazer ışığına maruz bırakıldığında, maksimum şiddeti 4000Å'da olan şiddetli bir floresans gösterir. UA-3 cihazında bu dalgaboyundaki emisyonun, uranyum floresansından izole edilebilmesi için yeşil-sıvı filtre kullanılmıştır. Fakat, daha uzun dalga boylu emisyon filtreden geçer ve belirgin bir girişim yaratabilir. Bu girişim, uranil floresansı ile çözeltideki organik bileşiklerin floresanslarının “yaşam süreleri” arasındaki farkın kullanılması ile giderilebilir.

Floresans bir madde, uyarım altında sürekli lüminesans yayar. Eğer uyarma birdenbire kesilirse, floresans olayı yaşam süresine bağlı olarak belirli bir zaman süresi içinde azalır. Birçok organik bileşiğin floresansı çok hızlı olarak zayıflar, yaşam süresi nadiren birkaç nanosaniyeyi aşar. Bunun tersine seyreltik çözeltilerdeki uranil iyonlarının floresansı, mikrasaniyenin bir kaç on katı kadar olan, organik moleküllerin floresansının bitmesine oranla çok uzun bir yaşam süresi içinde devam eder.

Bazı yüksek organik içerikli örneklerden gelen, uzun ömürlü çok zayıf yeşil renkli bir lüminesans, muhtemelen, organik maddenin triplet yayımı nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Bu durum, şiddetli fakat kısa yaşam süreli mavi “organik” floresansı gözleyen fotodiodda bir sinyalin olması ile dengelenir. Dengelemeden önceki artık sinyallerin ölçümü, doğal sulardaki organik içeriğin kalitatif bir ölçüsü olarak kullanılabilir.

UA-3 cihazında, kullanılan azot lazer yüksek uyarım şiddetine rağmen kısa süreli ($3-4 \times 10^{-9}$ s) bir pulsa sahiptir. Lazer ile etkileşim başlatılır, organik orjinli bileşiklerin floresansı durduktan sonra, elektronik algılama sistemi foto çoğaltıcı tüp (PMT)’den gelen gecikmiş sinyalleri algılar. Böylece, algılanan bu sinyaller hemen hemen uranyumun floresansından gelmektedir. UA-3 cihazı ile ilgili bazı özellikleri ve görüntüsü Çizelge 3.1 ve Şekil 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 UA-3 cihazının bazı özellikleri

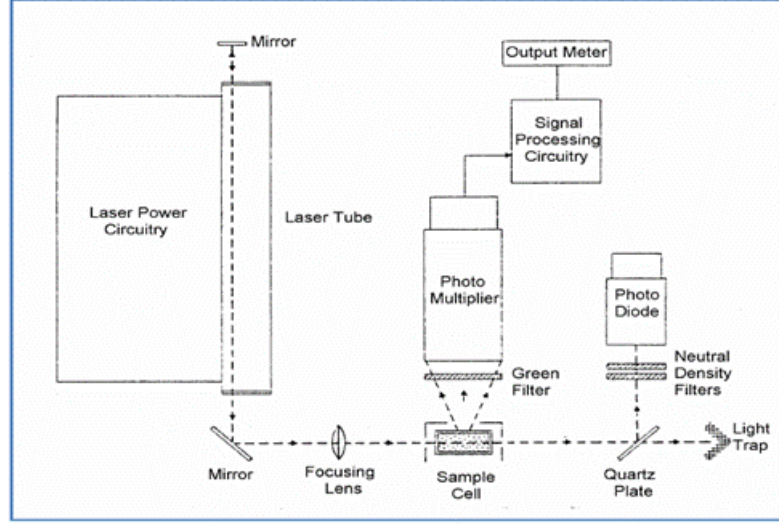
ÖZELLİKLER	DEĞERLER
Alt Dedeksiyon Sınırı	0,05 ppb
Ölçüm Doğruluğu	1 ppb ve üzerinde $\pm\%15$
Örnek Hacmi	5-6 ml sulu çözelti
Ölçüm Aralığı	2 – 20 ppb
Okuma Süresi	10 – 20 s
Uyarım Kaynağı	Kapalı Darbeli Azot Lazer
Çalışma Sıcaklığı	-10 °C ile 40 °C arası



Şekil 3.2 UA-3 uranyum analizörü cihazı.

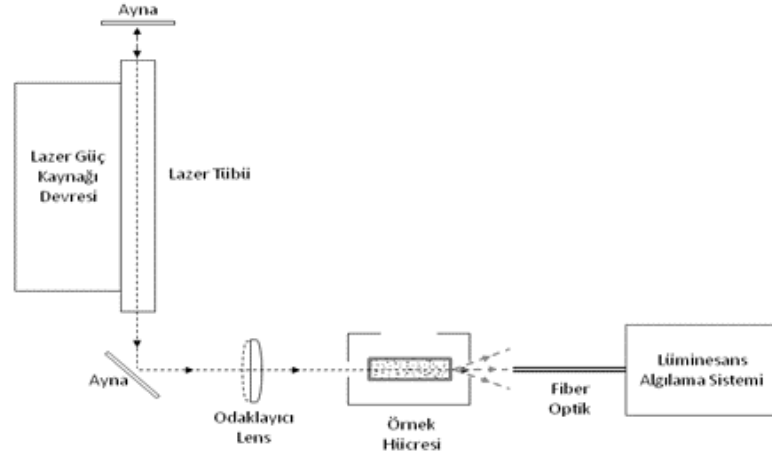
3.2 Lüminometre Sisteminin Yapısı

Şekil 3.3'te Sintrex firmasının UA-3 markalı uranyum analizörünün blok diyagramı gösterilmektedir. Bu sistemde lazer tüpünden çıkan 337 nm dalga boylu uv ışınlar aynalar ve fokuslayıcı lens yardımı ile örnek hücreinde bulunan sıvı numune üzerine odaklanır. Örnek hücresinin önünde 490 nm ve üzerindeki dalga boylarındaki emisyonları geçiren, band pass özelliği olan bir sıvı yeşil filtre kullanılmaktadır. Bu filtre yardımı ile PMT'nin sadece örnekten gelecek emisyonları algılaması sağlanmaktadır. Örneğin ışınlanma doğrultusuna dik yerleştirilen PMT ile örnekten gelen emisyonların şiddetleri ölçülerek sıvı numune içerisindeki uranyum konsantrasyonları eser miktarlarda tespit edilebilmektedir.



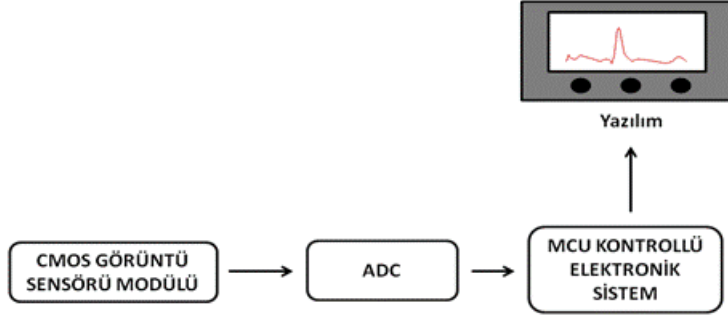
Şekil 3.3 Lazer florimetri (UA-3 analizörü) diyagramı (Madbouly et al., 2009).

Modifiye edilmiş lazer florimetri sisteminin blok diyagramı Şekil 3.4’de gösterilmektedir. Bu çalışmada Sintrex firması tarafından üretilen klasik sistem üzerinde bulunan lazer tüpü uyarma kaynağı olarak kullanılmıştır. Örnekten gelen emisyon, örneğin ışınlanma doğrultusunda tespit edilmeye çalışılmıştır. Emisyonun algılanmasında ise bir “CMOS” (Complementary Metal Oxide Semiconductor) görüntü algılama modülü kullanılmıştır.



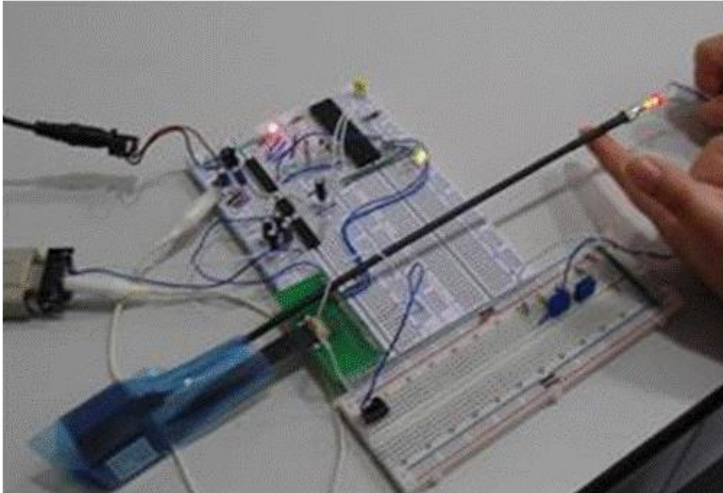
Şekil 3.4 Modifiye edilmiş lazer florimetri sisteminin blok diyagramı.

Şekil 3.5’te örnekten gelen emisyonun algılanması için kullanılan lüminometre sisteminin blok diyagramı gösterilmektedir.



Şekil 3.5 Lüminometre sisteminin blok diyagramı.

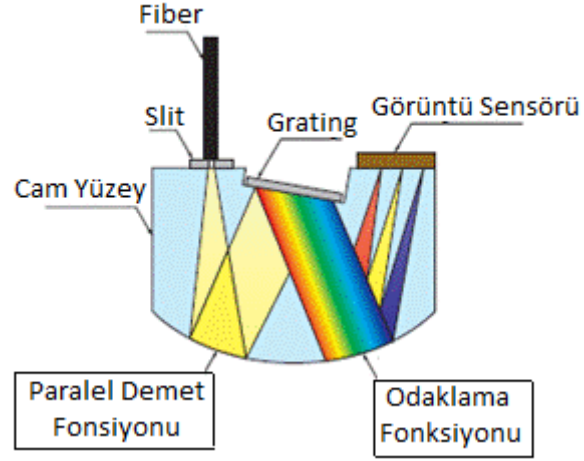
Örnekten gelen emisyon Şekil 3.4’de gösterilen fiber optik kablo yardımı ile CMOS görüntü algılama modülüne ulaştırılmaktadır. Şekil 3.5’de gösterildiği gibi modülden gelen analog sinyaller, analog dijital dönüştürücü (ADC) yardımı ile dijital veriye dönüştürülür. Oluşan veriler mikro denetleyici (MCU) kullanılarak bilgisayara aktarılır. Bilgisayar üzerinde yüklü bulunan sistemin kontrolü ve denetimi için geliştirilen yazılım ile birlikte bilgisayar ortamına ulaşan veriler için emisyonun dalgaboyuna karşılık emisyon şiddeti grafiği çizdirilir. CMOS görüntü algılama modülü içerisinde bir grating sistemi ve bir de CMOS görüntü algılama sensörü bulunmaktadır. Bundan dolayı, lüminometre sisteminde 490 nm ve üzerindeki emisyonların geçişine izin veren ayrı bir filtre kullanılmamıştır. Bu sayede klasik uranyum analizörü sisteminden farklı olarak oluşturulan sistem ile emisyonun dalgaboyu üzerinden spektrometrik tayin yapabilmek mümkün olmuştur. Şekil 3.6’da board üzerine kurulmuş lüminometre sistemi gösterilmiştir. Ek 1’de de lüminometre sisteminin tamamlanmış devre kartı verilmiştir.



Şekil 3.6 Lüminometre sisteminin görüntüsü.

3.2.1 CMOS görüntü algılama modülü

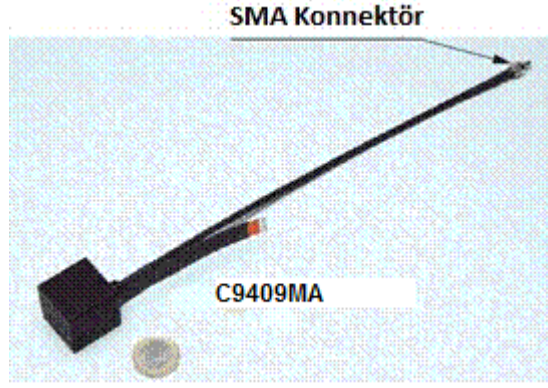
Bu çalışmada, örnekten gelen emisyonu algılamak için HAMAMATSU firmasının C9409MA kodlu görüntü algılama modülü kullanılmıştır. Modülün iç yapısı Şekil 3.7’de verilmektedir.



Şekil 3.7 CMOS görüntü algılama modülünün iç yapısı (Hamamatsu, 2008).

Şekil 3.7’de görüldüğü gibi örnekten gelen emisyon, modülün ucuna bağlı bulunan fiber optik kablo yardımı ile modülün iç yüzeyi üzerine gönderilir. Modülün camdan yapılmış iç yüzeyine gelen bu ışınlar, paralel demet haline getirilerek modül içerisindeki grating aparatı üzerine gönderilir. Grating aparatı üzerine gelen çoklu dalgaboylu ışın demeti, tek dalgaboylu ışınlara ayrılır ve bu ışınlar tekrar modülün cam yüzeyi üzerine gönderilir. Cam yüzeyin üzerine gelen bu ışınlar, daha sonra modülde kullanılan görüntü sensörü üzerine odaklanır.

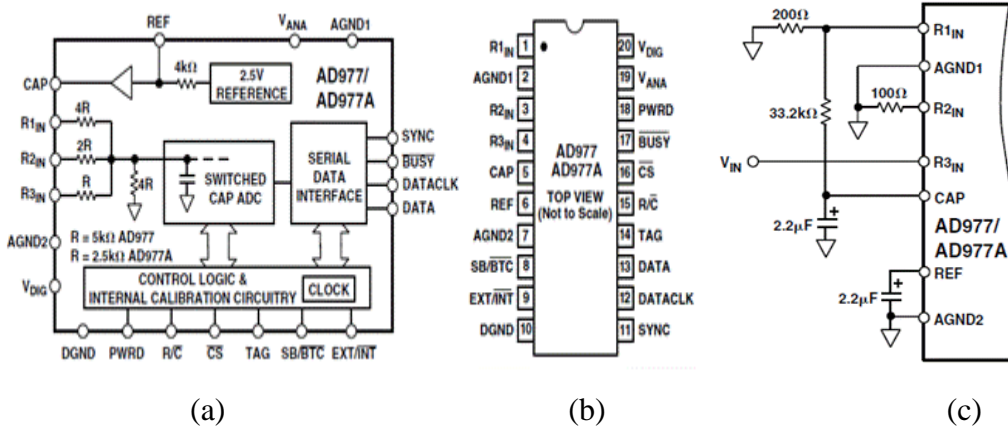
Modül içerisinde HAMAMATSU firmasının S8378-256N kodlu doğrusal CMOS görüntü sensörü kullanılmıştır. Modülün algılama yapabildiği dalgaboyu aralığı yaklaşık olarak 340-780 nm’dir. Şekil 3.8’de modülün gerçek boyutlu fotoğrafı gösterilmektedir.



Şekil 3.8 CMOS görüntü sensörü modülü (Hamamatsu, 2008).

3.2.2 Analog dijital dönüştürücü (ADC) entegresi

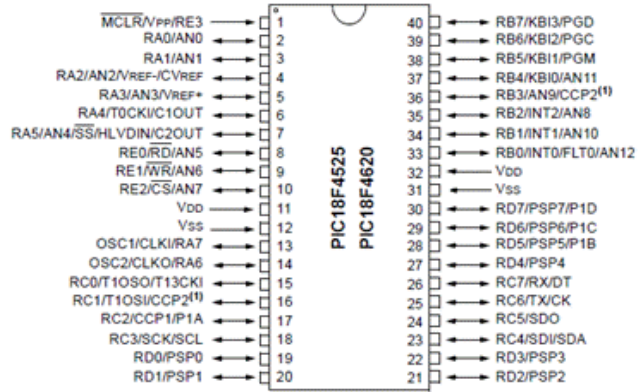
CMOS görüntü algılama modülünden gelen analog sinyalleri dijital veriye dönüştürmek için “Analog Devices” firmasının AD977 kodlu entegresi kullanılmıştır. Kullanılan ADC, 16 bit veri dönüşümünü yapabilmektedir. Kullanılan ADC’nin diğer özelliği ise, saniyede maksimum 100.000 örnekleme kapasite hızına sahip olmasıdır. Şekil 3.9’de kullanılan ADC’nin, a) iç devre yapısının ve b) pin bağlantılarının blok diyagramı gösterilmektedir. Kullanılan ADC ile 0 – 5V aralığındaki analog sinyalleri, dijital sinyallere dönüştürebilmek için, üretici firmanın önerdiği harici bağlantılar, Şekil 3-9 (c)’de gösterildiği gibi yapılmıştır (Analog Devices, 2000).



Şekil 3.9 ADC'nin (a) iç devre yapısı, (b) pin ve (c) harici bağlantılarının blok diyagramı (Analog Devices, 2000).

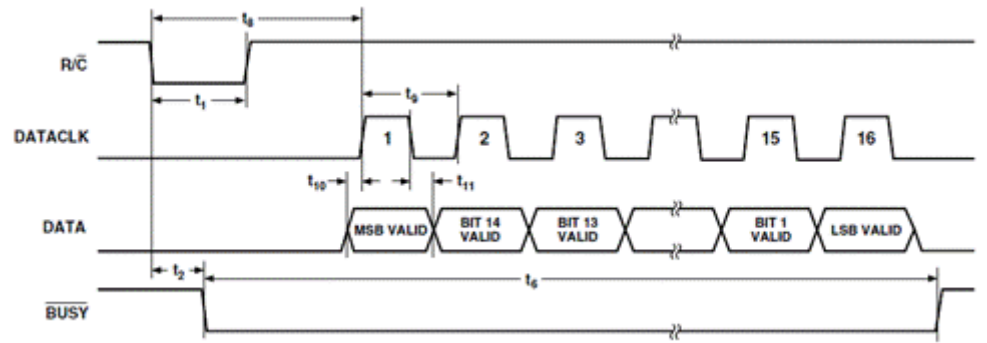
3.2.3 Mikro denetleyici (MCU) kontrollü elektronik sistem

Lüminometre sisteminin elektronik kısmının kontrolünü sağlamak amacıyla, Microchip firmasının 18F4620 kodlu mikro denetleyicisi (Microcontroller unit) kullanılmıştır. Kullanılan mikro denetleyicinin pin bağlantıları Şekil 3.10'da gösterilmiştir. Mikro denetleyicinin istenilen kontrolleri sağlayabilmesi amacıyla, gerekli kodlar Micro Basic programlama dili kullanılarak yazılmış ve MCU içine aktarılmıştır.

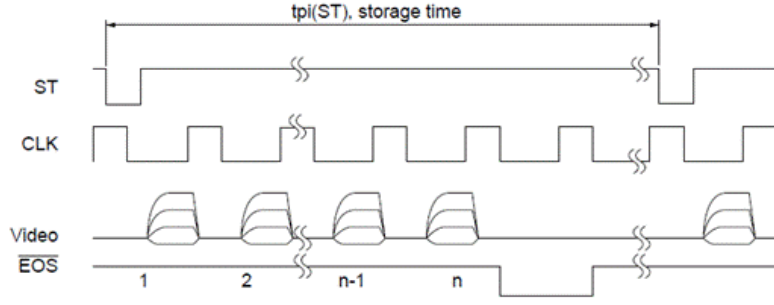


Şekil 3.10 MCU'nu pin bağlantıları (Microchip, 2008).

Kullanılan ADC'den ve CMOS görüntü sensör modülünden, verilerin uygun biçimde alınabilmesi için Şekil 3.11 ve Şekil 3.12'deki zaman çizelgelerine uygun dijital sinyaller MCU tarafından üretilmiştir.

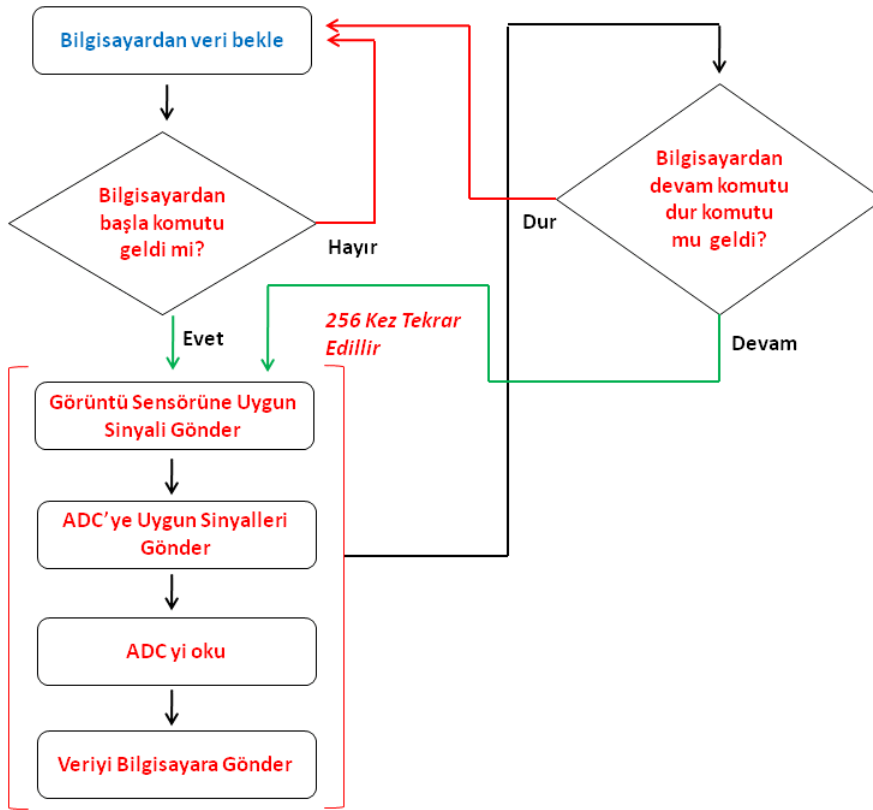


Şekil 3.11 ADC zamanlama çizelgesi (Analog Devices, 2000).

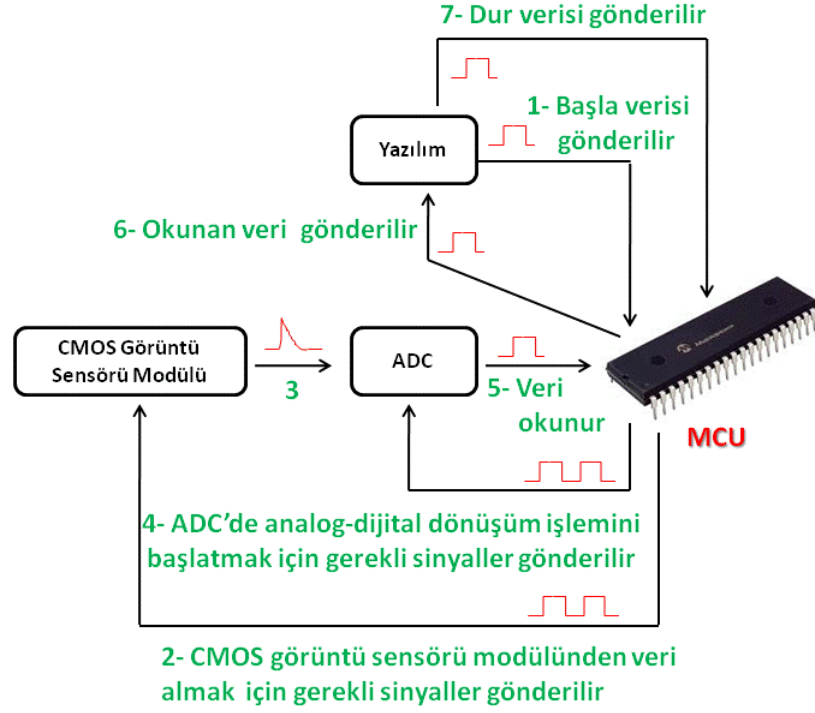


Şekil 3.12 CMOS görüntü algılama modülünün zamanlama çizelgesi (Hamamatsu, 2009).

MCU'nun temel görevi, CMOS görüntü algılama modülünü ve ADC yi kontrol ederek algıladığı dijital veriyi bilgisayara göndermek ve bununla birlikte bilgisayardan gelen verileri değerlendirmektir. MCU'nun tasarımı gerçekleştirilen elektronik sistemi kontrol ederken izlediği basamaklar Şekil 3.13 ve Şekil 3.14'de gösterilmiştir.



Şekil 3.13 MCU içine aktarılan programın akış diyagramı.



Şekil 3.14 MCU'nun çevresel birimleri kontrol etmesi için izlenen yol.

Şekil 3.13 ve 3.14'e göre MCU'nun elektronik sistemi kontrol ederken izlediği yollar aşağıdaki gibi sıralanabilir;

1. Öncelikle MCU bilgisayara yüklü yazılım tarafından başla verisinin gönderilmesini bekler.
2. MCU başla verisini alınca Şekil 3.12'deki zamanlama çizelgesine uygun olarak görüntü sensörü modülüne uygun sinyalleri gönderir.
3. Görüntü sensörü algıladığı ışık şiddeti ile doğru orantılı analog sinyaller üretmeye başlar.
4. Bu sinyaller ADC'ye gönderilir.
5. ADC'ye ulaşan bu analog sinyallerin dijital verilere dönüştürülmesi için MCU tarafından Şekil 3.11'de gösterilen zamanlama çizelgesine uygun sinyaller üretilerek ADC'ye gönderilir.
6. ADC dönüşüm işlemi tamamlar ve dijital veriyi MCU'ya gönderir.
7. MCU dijital veriyi okur ve bilgisayara gönderir.
8. 2 ile 7 numaralı basamaklar arasındaki işlemler 256 kez tekrarlanır. Böylece CMOS görüntü sensörünün tüm pikselleri okunmuş olunur.
9. Yazılımdan dur verisinin gelip gelmediği denetlenir.

10. Dur verisi geldiyse işlem sonlandırılır ve MCU yeni bir işleme başlamak için başla verisinin gelip gelmediğini kontrol eder.
11. Dur verisi gelmediyse 2 ile 7 numaralı basamaklar arasındaki işlemler yeniden 256 kez tekrar edilir.

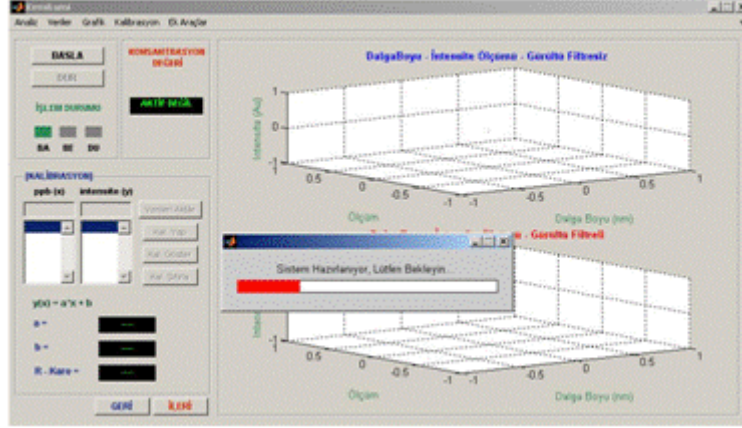
2 ile 7 numaralı basamaklar arasındaki işlemlerin 256 kez tekrarlanması ile kullanılan 256 pikseli CMOS görüntü sensörü üzerindeki tüm pikseller taranmış olur. Bir sonraki taramaya geçebilmek için görüntü sensörü üzerindeki tüm piksellerin taranması gerekir. Tarama işlemi baştan sona tamamlandığında CMOS görüntü sensörü “EOS” (End Of Scan) sinyali üretir. Bu sinyal tüm piksellerin tarandığı anlamına gelir. Bu sinyal oluşmadan CMOS görüntü sensörü bir sonraki tarama işlemini başlatmaz.

3.2.4 Sistemin yazılımı

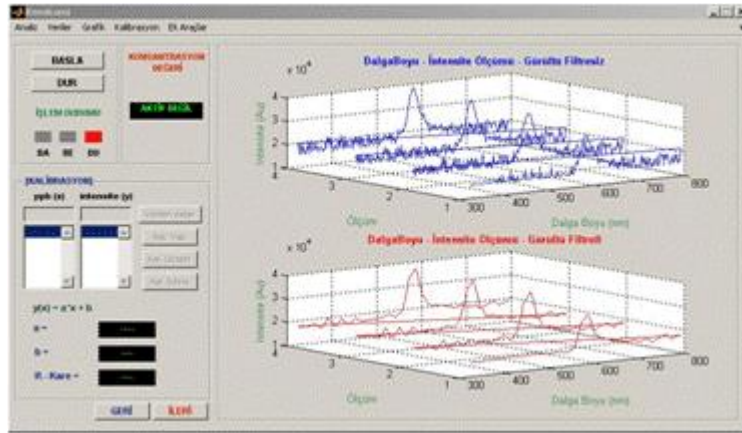
Sistemin bilgisayar üzerinden kontrolünü sağlayan yazılım MATLAB ortamında geliştirilmiştir. Yazılımın ekran görüntüsü Şekil 3.15’de gösterilmiştir. Yazılımın temel görevleri;

- Elektronik sistemin kontrolü,
- Gelen verilerin ekrana eş zamanlı grafiksel olarak aktarılması,
- Gelen verilerin excel ortamına kaydedilmesi (İsteğe bağlı) ve
- Ekrana aktarılan grafik gösterimlerin bilgisayar ortamına kaydedilmesi (İsteğe bağlı)

olarak sıralanabilir.

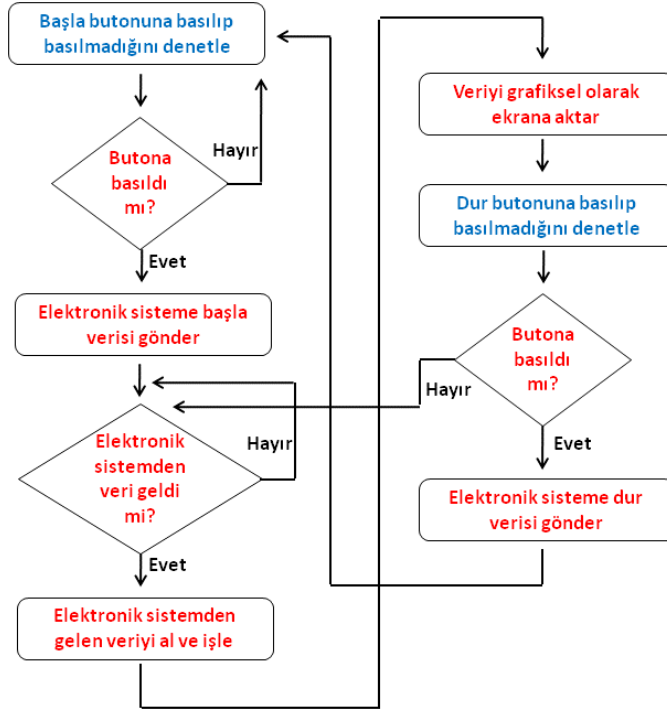


(a)



(b)

Şekil 3.15 Lüminometre sisteminin yazılımının ekran görüntüsü.



Şekil 3.16 Sistem yazılımının akış diyagramı.

Şekil 3.16'ya göre yazılımın elektronik sistemi kontrol ederken izlediği yollar aşağıdaki gibi sıralanabilir;

1. Öncelikle yazılım, başla butonuna basılıp basılmadığını denetler.
2. Başla butonuna basıldı ise yazılım elektronik sisteme başla verisini gönderir.
3. Elektronik sistemden dijital veri gelmesini bekler.
4. Elektronik sistemden dijital veri geldi ise bu veri üzerinde gerekli matematiksel işlemleri yaparak algılanan ışının şiddetini belirler.
5. Düzenlenen bu veri ile birlikte dalgaboyuna karşı algılanan ışının şiddetini eş zamanlı olarak ekrana aktarır ve dalgaboyuna karşı algılanan bu ışının şiddet grafiğini çizer.
6. Dur butonuna basılıp basılmadığını denetler.
7. Dur butonuna basılmadı ise 3 ile 5 numaralı basamaklar arasındaki işlemleri tekrarlar.
8. Dur butonuna basıldı ise elektronik sisteme dur verisini gönderir.
9. Başla butonuna tekrardan basılıp basılmadığını denetler.

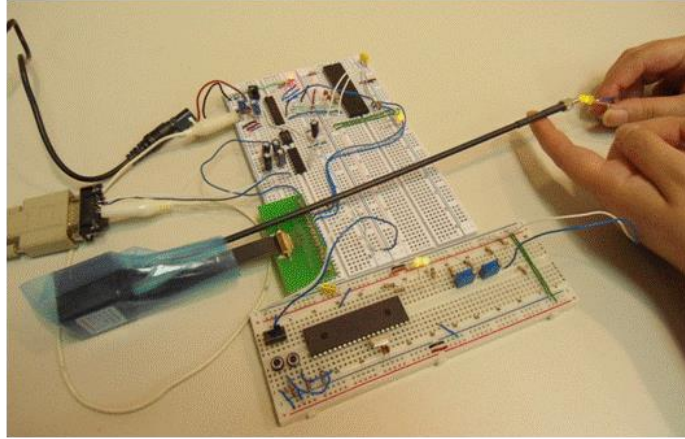
3.3 Lüminometre Sisteminin Ön Testlerinin Yapılması

Tasarlanan lüminometre sistemi için ön testler mavi, sarı, yeşil ve kırmızı ledler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu ledler ile sistemin, hem emisyonun dalgaboyunu hem de bu emisyonun şiddetini belirleyebilme özelliği test edilmiştir.

Sisteme gelen emisyonun farklı şiddetlerdeki dalgaboyunu ayırma duyarlılığını test edebilmek için aynı ledler sistemin fiber optiği önüne farklı mesafelerde yerleştirilmiş ve bu şartlarda ölçümler alınarak sistemin farklı dalga boylarını ayırma duyarlılığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

3.3.1 Dalgaboyu ve şiddet ölçümü

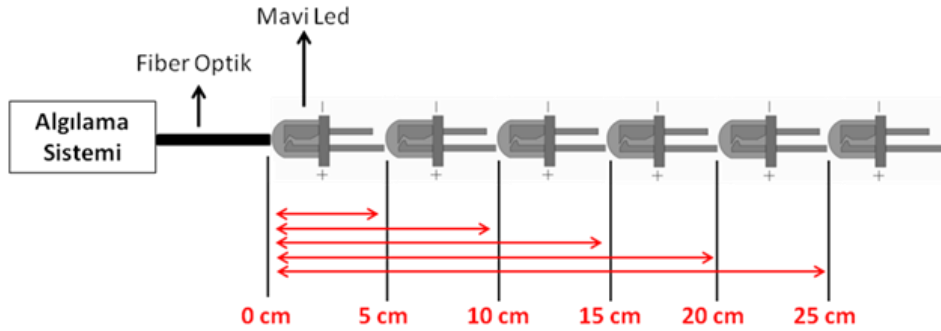
Tasarlanan lüminometre sistemi Şekil 3.17’de gösterildiği gibi, fiber optik kablosunun önüne mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler sırayla tutularak, gelen emisyonların dalgaboyu ve şiddet ölçümleri test edilmiştir. Her bir ölçüm üç kez tekrar edilmiştir.



Şekil 3.17 Dalgaboyu ve şiddet ölçüm testi.

3.3.2 Farklı emisyon şiddetlerinde sistemin dalgaboyu ayırma gücünün test edilmesi

Lüminometre sisteminin herhangi bir ışık kaynağından yayımlanan ve birbirine yakın olan dalgaboylarındaki emisyonları algılanabilmesi, farklı dalgaboylarındaki emisyonları ayırma gücüne (duyarlılığına) bağlıdır. Bu duyarlılık, deteksiyon verimi açısından önem taşımaktadır. Çalışmamızın bu bölümünde emisyon kaynağı ve ölçüm sistemi arasındaki mesafe değiştirilerek, farklı emisyon şiddetlerinde ölçülen piklerin FWHM değerlerinin değişimi, dalgaboyu cinsinden belirlenmeye ve ayrıca sistemin birbirine yakın olan iki farklı dalgaboyunu ayırma gücünü tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla mavi led, Şekil 3.18’de gösterildiği gibi, sisteminin fiber optiğinin ucundan başlayarak beşer cm arayla fiber optik ile 5-25 cm mesafeler olacak şekilde yerleştirilmiş ve bu konumlarda ölçümler alınmıştır. Bu aşamadan hemen sonra kombine ledlerden (mavi, yeşil, sarı ve kırmızı) sağlanan emisyonların dalgaboyları ölçülmüş ve sistemin ayırma gücü test edilmiştir.



Şekil 3.18 Dalgaboyu ayırma gücü test sistemi.

3.4 Ölçüm Belirsizliğinin Tespit Edilmesi

Lüminometre sistemi ile yapılan ardarda ölçümlerde hata oranlarını tespit etmek amacıyla 5, 10 ve 15 ppb’lik sulu uranyum çözeltilerine fluran ilave edildikten sonra (Bölüm 3.5.2’de anlatıldığı gibi) her biri 10’ar kez ölçülmüştür. Elde edilen emisyon spektrumlarından 504,8 nm’deki piklerin şiddetleri kaydedilmiştir. Ölçülen şiddet değerlerinin ortalaması, standart sapma ve bağlı hata değerleri excel programı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.5 Uranyum Sıvı Faz Çalışmaları

3.5.1 Organik çözeltilerde uranyumun saptanması

Uranyumu cevherden kimyasal süreçler ile sulu faza geçirildikten sonra, saflaştırmak ve konsantre etme amacıyla birçok ayırma tekniği uygulanmaktadır. Solvent ekstraksiyonu bunlardan biri olup, bu kimyasal süreçte kullanılan organik çözenlerde, örneğin TBP-Kerosen karışımında, uranyum miktarını özellikle düşük miktarda saptamak diğer bilinen teknikler ile oldukça zor olduğundan ve ayrıca, organik fazda bulunan uranyumun floresans özelliği daha kuvvetli olduğundan lüminometre sisteminin bu alanda kullanılabilirliği test edilmiştir.

Bu amaçla hazırlanan 5, 10 ve 15ppb'lik uranyum sulu çözeltileri ayrı ayrı, %30'luk TBP-Kerosen karışımı ile muamele edilmiştir. Organik ve sulu fazlar birbirinden ayırdıktan sonra organik fazda uranyum derişimlerini saptamak amacıyla uranyum analizörünün örnek yuvasına organik faz yerleştirilmiş ve azot lazere (uv ışına) maruz bırakılmıştır. Bu esnada örnek uyarılmasından kaynaklanan emisyonlar lüminometre sistemi ile ölçülmüştür.

Lüminometre sistemi, elde edilen ölçüm sonuçları ile kalibre edilmiştir. Yukarıda anlatılan prosedürler ile 7ppb'lik uranyum sulu çözeltisi hazırlanarak lüminometre sisteminde ölçümü yapılmış ve çizilen kalibrasyon eğrisinden organik çözeltinin uranyum konsantrasyonu belirlenmiştir.

3.5.2 Uranyumun sulu çözeltide saptanması

Çalışmanın bu aşamasında tasarımı gerçekleştirilen lüminometre ile sulu fazdaki uranyumun saptanması amaçlanmıştır. Bu amaçla daha önceden hazırlanan düşük derişimli uranyum çözeltilerinden (5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum çözeltileri) 5 mL pipetle çekilerek küvartz kuvvet içerisine ilave edilmiş ve daha sonra her bir çözeltiye 1 mL fluran ilave edilerek karıştırılmıştır. Küvet uranyum analizörünün içerisine yerleştirilmiş ve 1 dk bekletildikten sonra uv lazaer ile uyarma işlemi başlatılarak ölçüm yapılmıştır.

Lüminometre sistemi elde edilen ölçüm sonuçları ile kalibre edilmiştir. Bir önceki paragraftaki kimyasal prosedür ile 7 ppb'lik uranyum sulu çözeltisi hazırlanarak lüminometre sisteminde ölçümü yapılmış ve yapılan kalibrasyondan sulu çözeltinin uranyum konsantrasyonu belirlenmiştir.

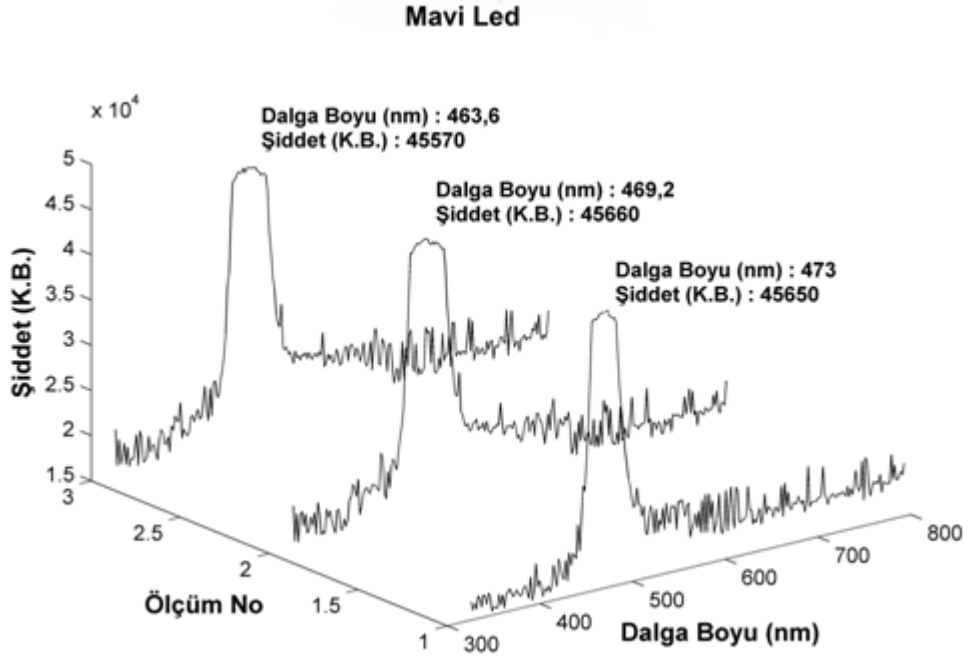
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Lüminometre Sistemi İçin Yapılan Ön Testlerin Sonuçları

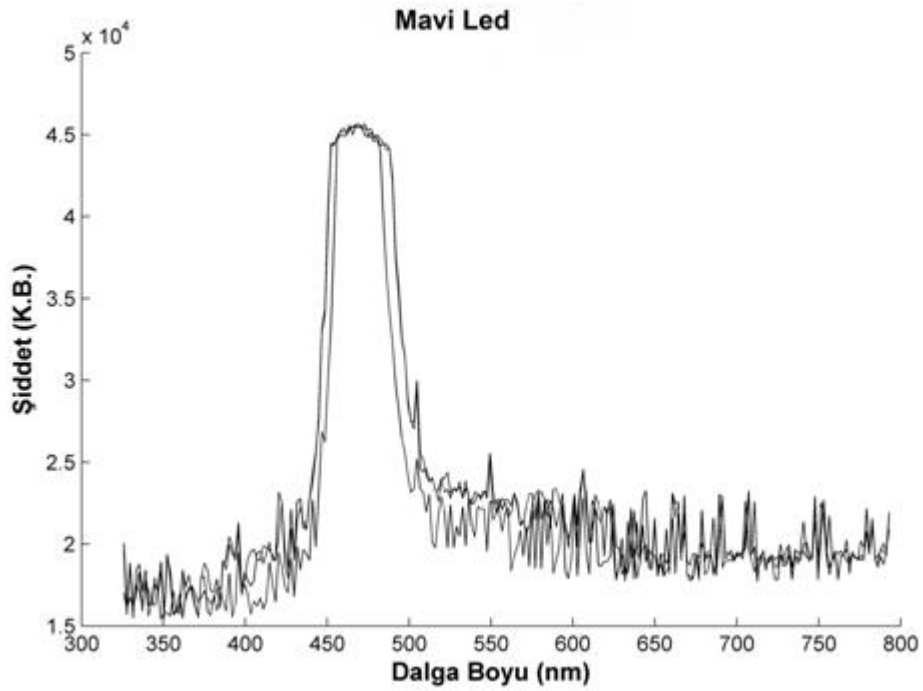
4.1.1 Dalgaboyu-şiddet ölçüm denemeleri

Tasarlanan lüminometre sistemi mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler ile test edilmiş ve her bir led için üç kez ölçüm yapılmıştır. Yapılan ölçümlere ilişkin verilerin grafiksel gösterimleri Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4’de verilmiştir.

Mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler için yapılan üç ölçümün sonuçları şekil 4.1(a), 4.2(a), 4.3(a) ve 4.4(a)’da verilmiştir. Tekrarlı ölçümler arasındaki uyumu daha iyi gösterebilmek amacıyla elde edilen veriler kullanılarak yukarıdaki grafikler üst üste çakıştırılarak şekil 4.1(b), 4.2(b), 4.3(b) ve 4.4(b) de verilen grafikler elde edilmiştir. Çizelge 4.1 ve Şekil 4.5’de mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledlerin belirlenen maksimum şiddetleri için yaptıkları emisyonlarının dalga boyları verilmiştir.



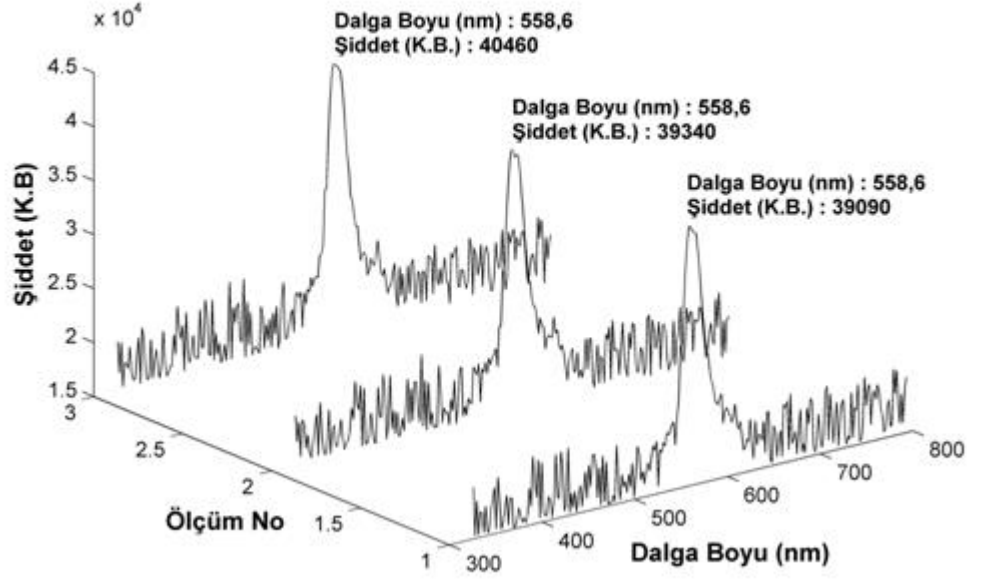
(a)



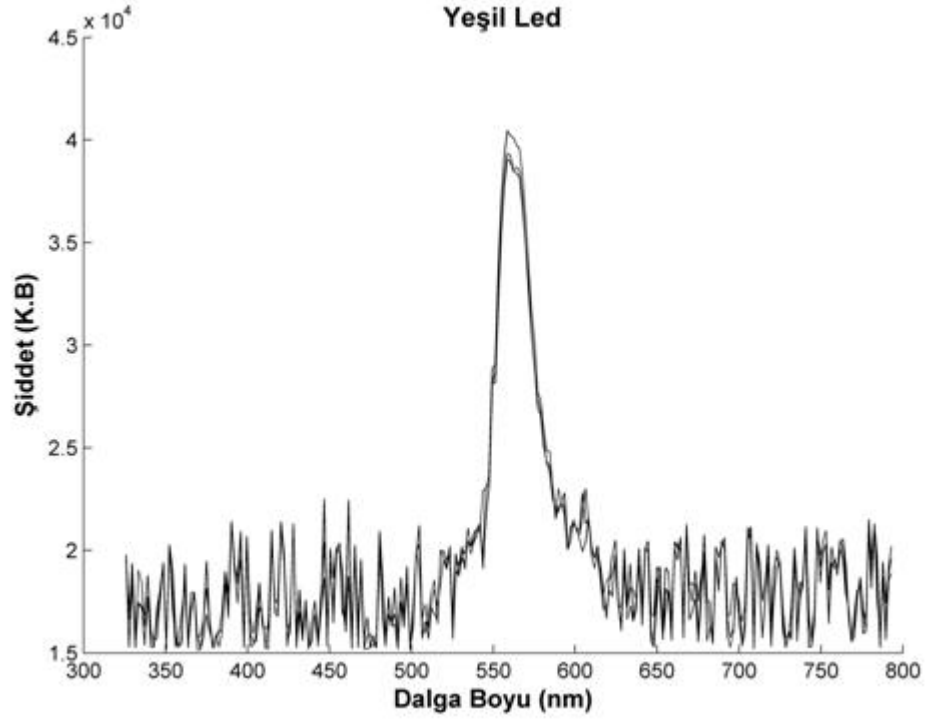
(b)

Şekil 4.1 Mavi led, emisyon dalgı boyu - şiddet ölçümü.

Yeşil Led

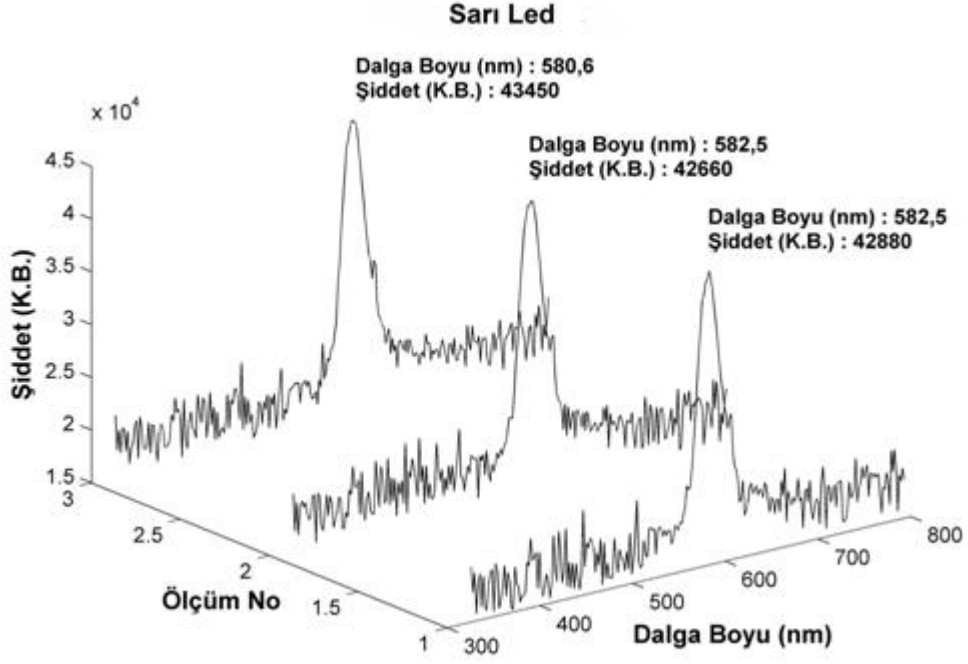


(a)

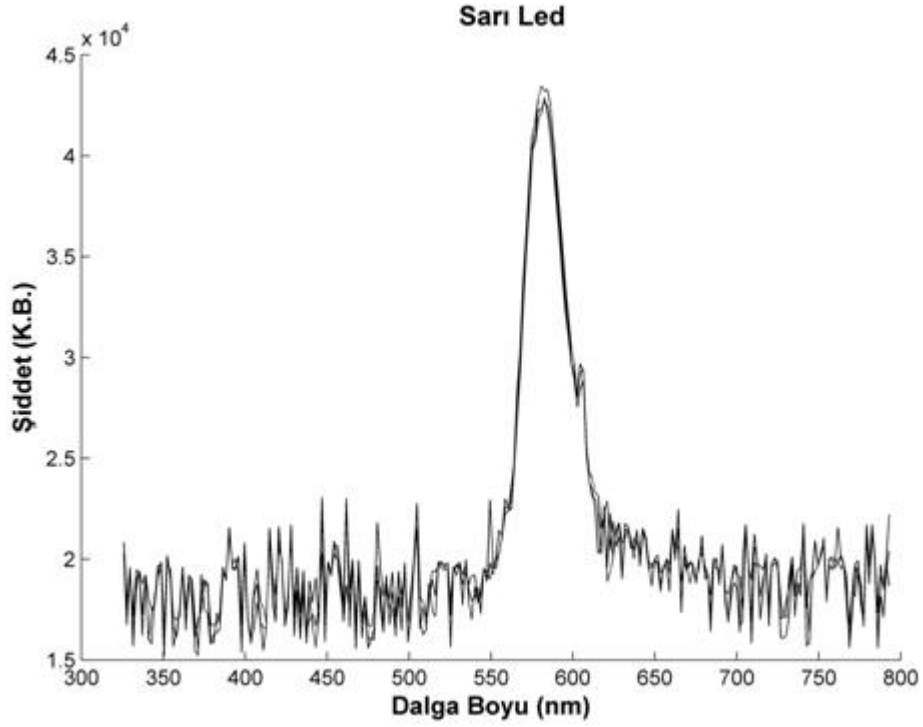


(b)

Şekil 4.2 Yeşil led, emisyon dalga boyu - şiddet ölçümü.

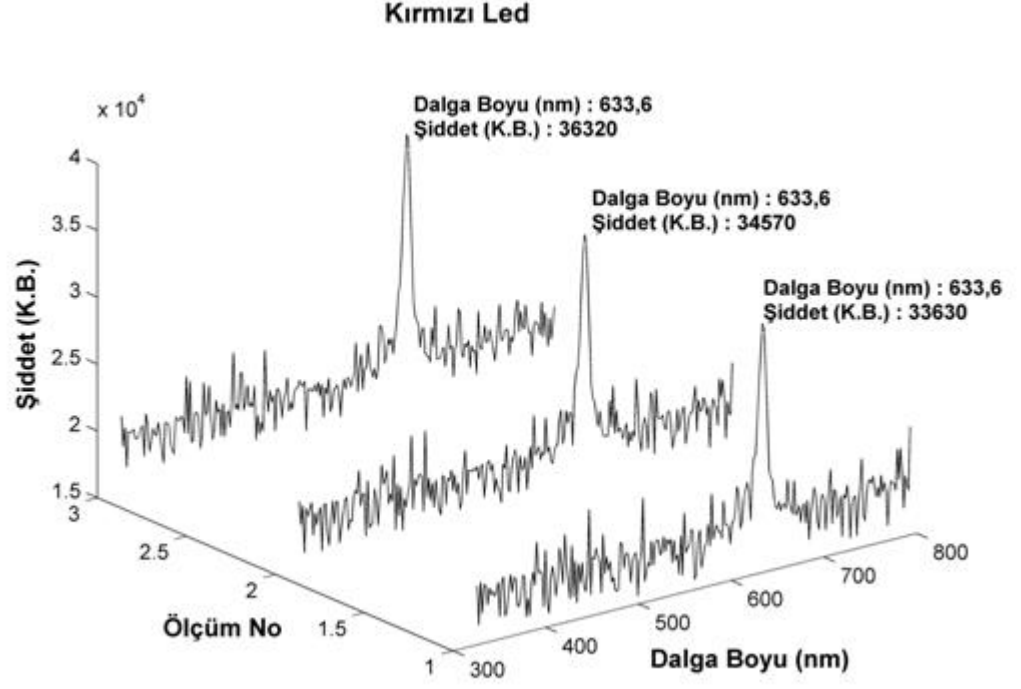


(a)

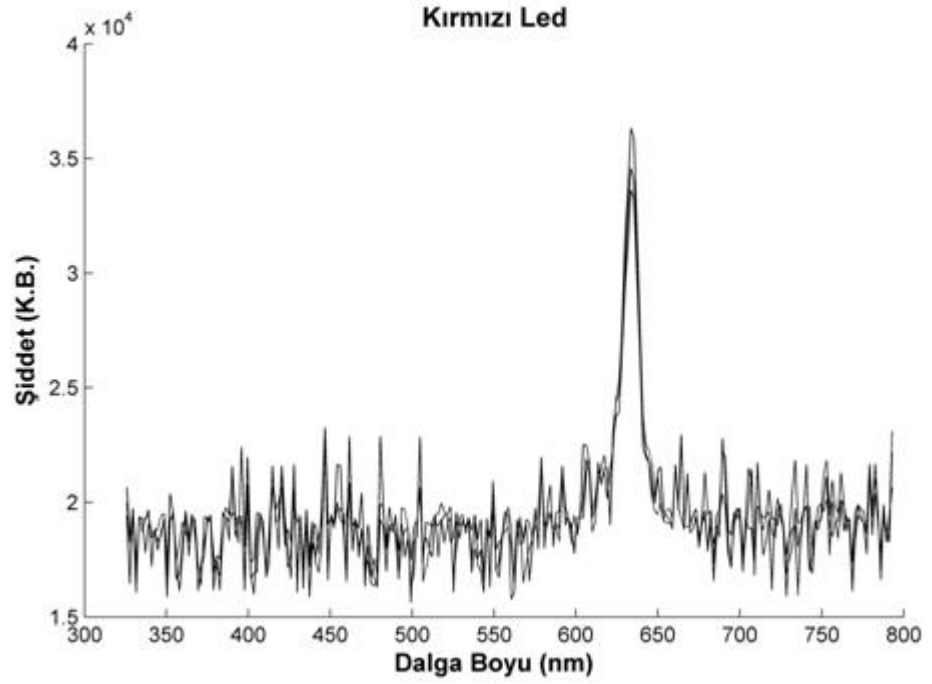


(b)

Şekil 4.3 Sarı led, emisyon dalga boyu - şiddet ölçümü.



(a)



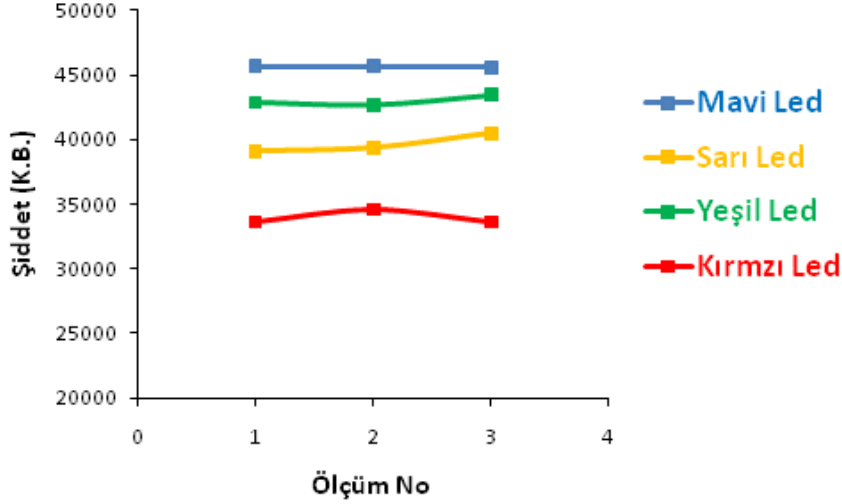
(b)

Şekil 4.4 Kırmızı led, emisyon dalgı boyu - şiddet ölçümü.

Çizelge 4.1 Led emisyonlarının ölçülmüş dalga boyu – şiddet değerleri

Ölçüm No	Mavi Led		Yeşil Led		Sarı Led		Kırmızı Led	
	Db.	Şid.	Db.	Şid.	Db.	Şid.	Db.	Şid.
1	473,0	45650	558,6	39090	582,5	42880	633,6	33630
2	469,2	45660	558,6	39340	582,5	42660	633,6	34570
3	463,6	45570	558,6	40460	580,6	43450	633,6	33620

Db. : Dalgaboyu ; Şid. : Şiddet (K.B.)



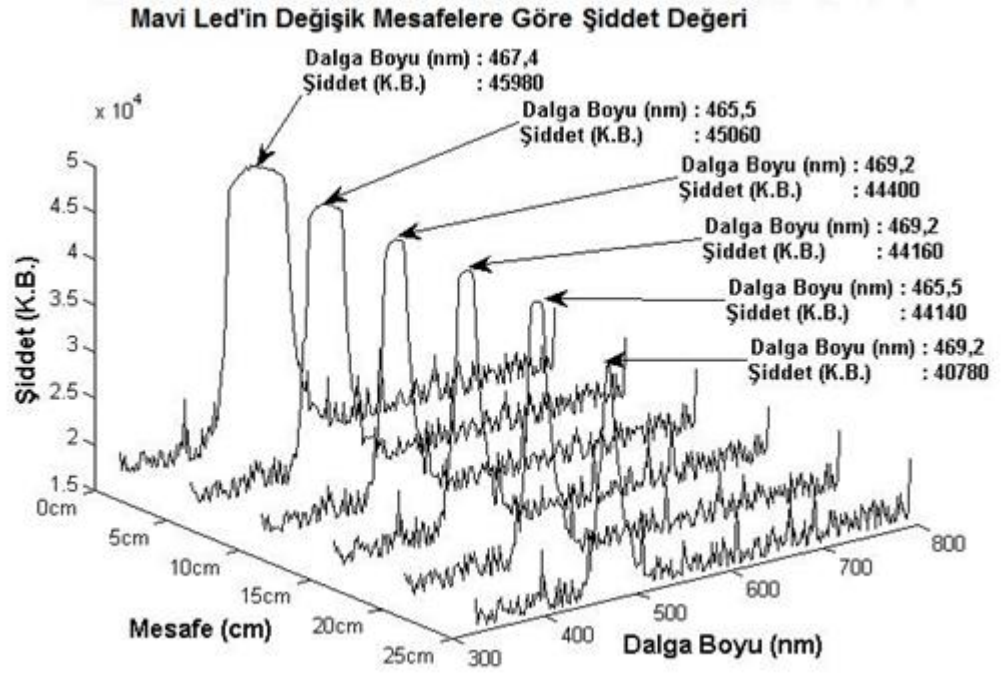
Şekil 4.5 Led emisyonlarının ölçülmüş dalga boyu – şiddet değerleri.

Çizelge 4.1 ve Şekil 4.5’de de görüldüğü gibi ledler ile yapılan tekrarlı denemeler sonucunda, hem ışık kaynaklarının dalga boyları hem de kullanılan ışık kaynaklarının emisyonlarının şiddetleri lüminometre sistemi tarafından doğru ve kararlı biçimde algılanabilmektedir.

Bu denemeler lüminometrenin, bir ışık kaynağının emisyonunun dalgaboyunu ve şiddetini algılayabilme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir.

4.1.2 Farklı emisyon şiddetlerinde dalgaboyu ayırma duyarlılığı

Emisyon kaynağı – ölçüm sistemi arasındaki mesafe ile emisyonun şiddetinin değişimi Şekil 4.6’da gösterilmiştir. Çizelge 4.2’de ölçümün yapıldığı mesalere karşı elde edilen maksimum emisyon şiddet değerleri verilmiştir.

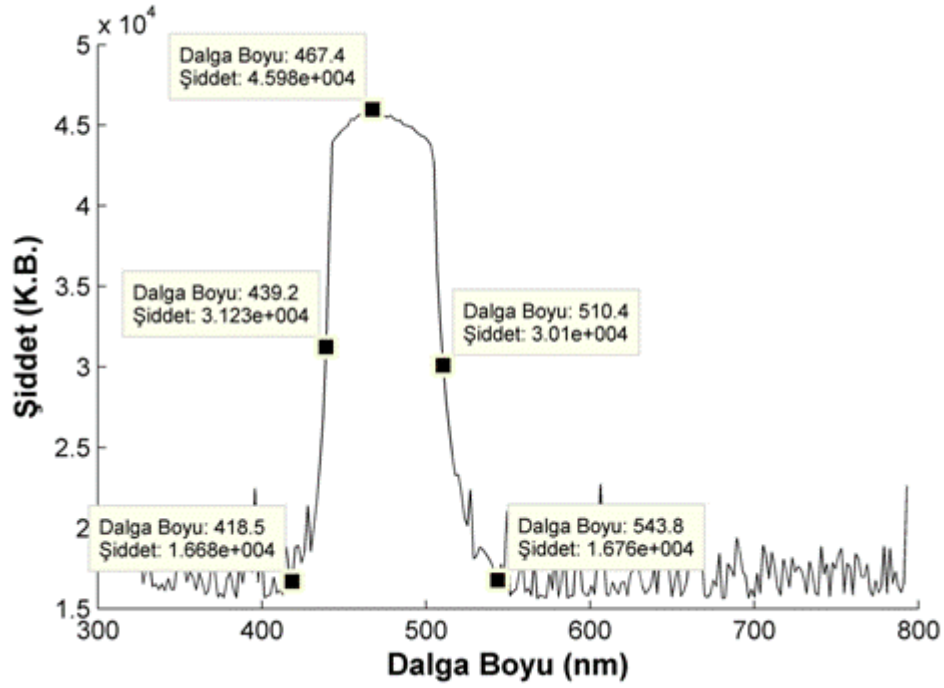
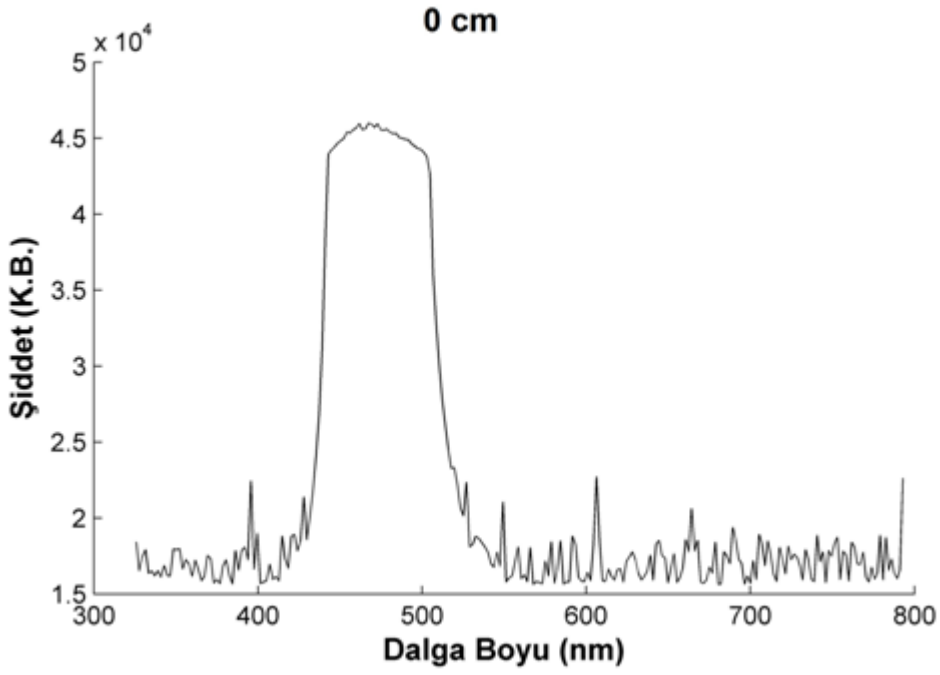


Şekil 4.6 Mavi ledin çeşitli mesafelerdeki dalgaboyu – şiddet değerleri.

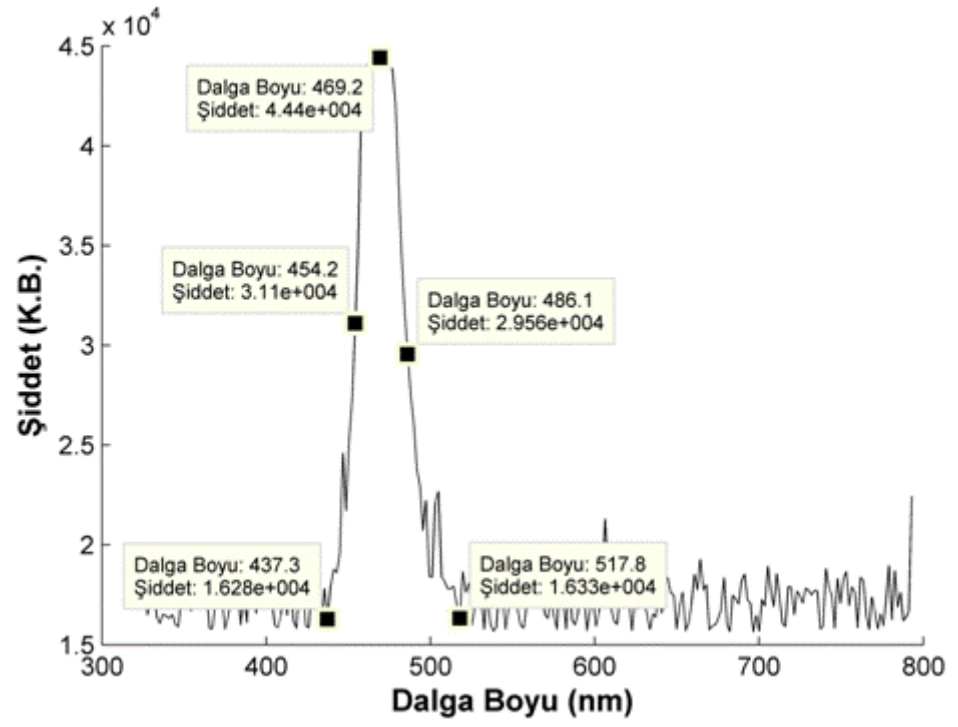
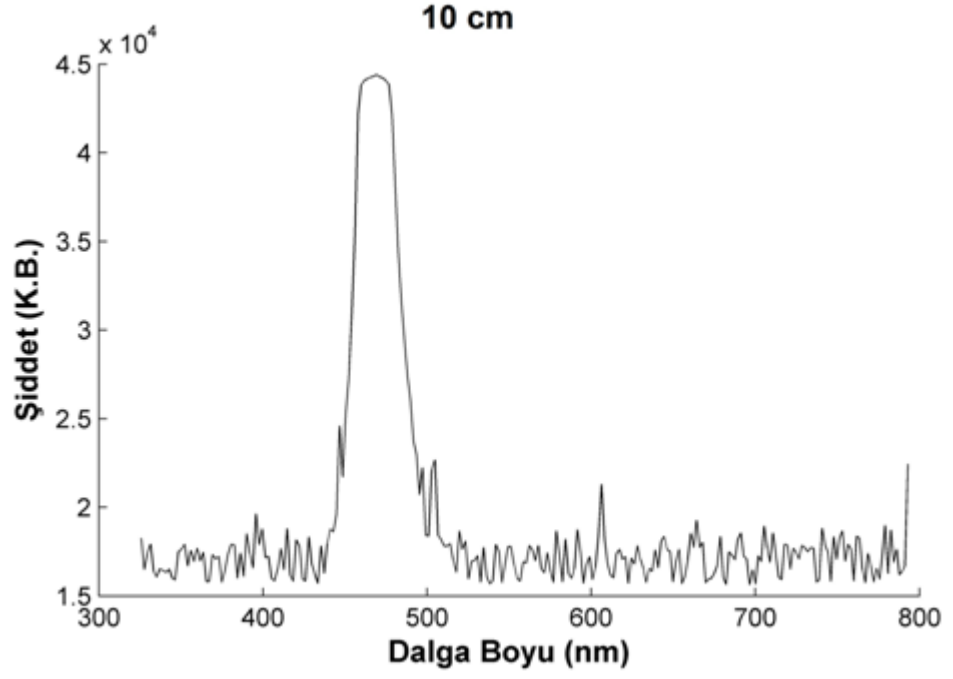
Çizelge 4.2 Mavi ledin çeşitli mesafelerdeki şiddet değerleri

Mesafe (cm)	Şiddet (K.B.)
0	45980
5	45060
10	44400
15	44160
20	44140
25	40780

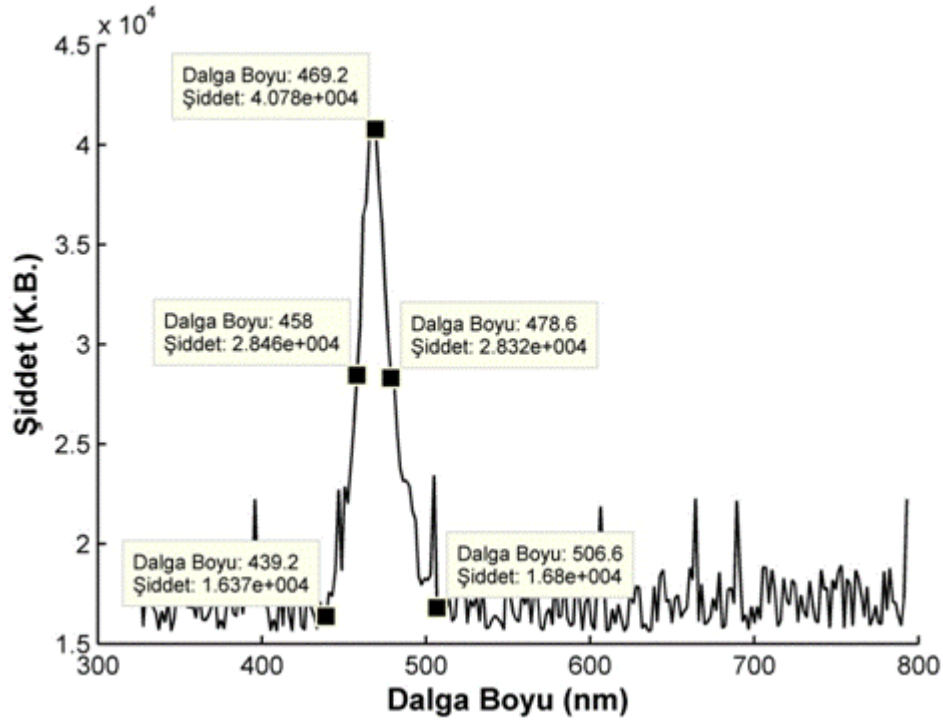
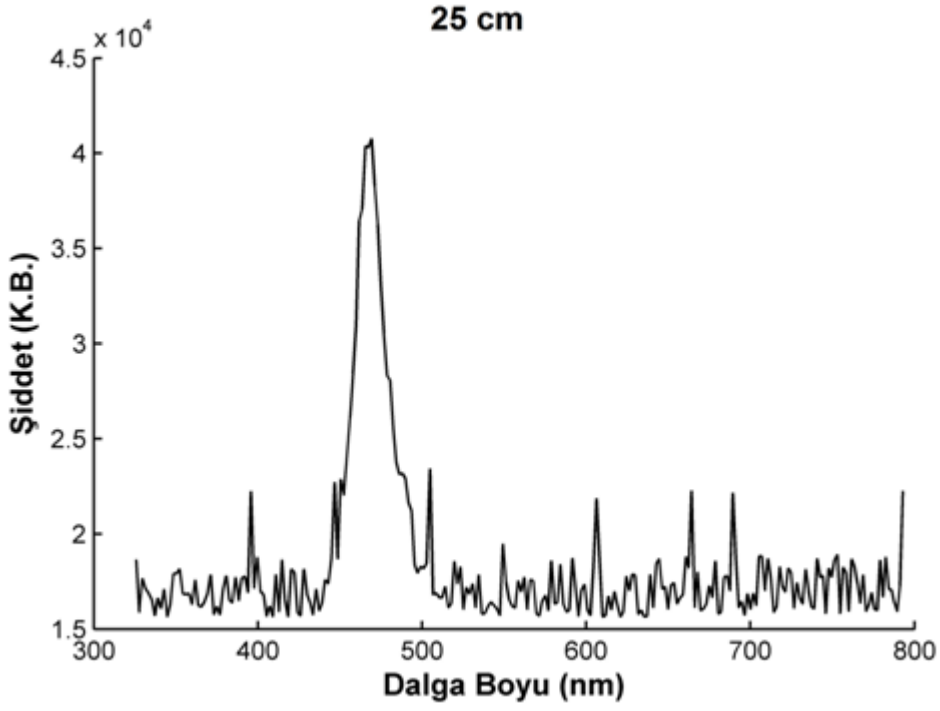
Şekil 4.7, 4.8 ve 4.9’da ölçülen piklerin FWHM değerleri, dalgaboyuna göre gösterilmiştir. Çizelge 4.3’de de 0’ıncı, 10’uncu ve 25’inci cm mesafelerden yapılan ölçümler için piklerin dalgaboylarına göre FWHM değerlerinin değişimi ile maksimum şiddetleri arasındaki değişimler verilmiştir.



Şekil 4.7 0 cm'de mavi led piki.



Şekil 4.8 10 cm'de mavi led piki.



Şekil 4.9 25 cm’de mavi led piki.

Çizelge 4.3 Mavi led pikinin çeşitli mesafelerdeki Şiddet - FWHM değerleri

Mesafe (cm)	Maksimum Şiddet (K.B.)	FWHM (nm)
0	45980	71,2
10	44400	31,9
25	40780	20,6

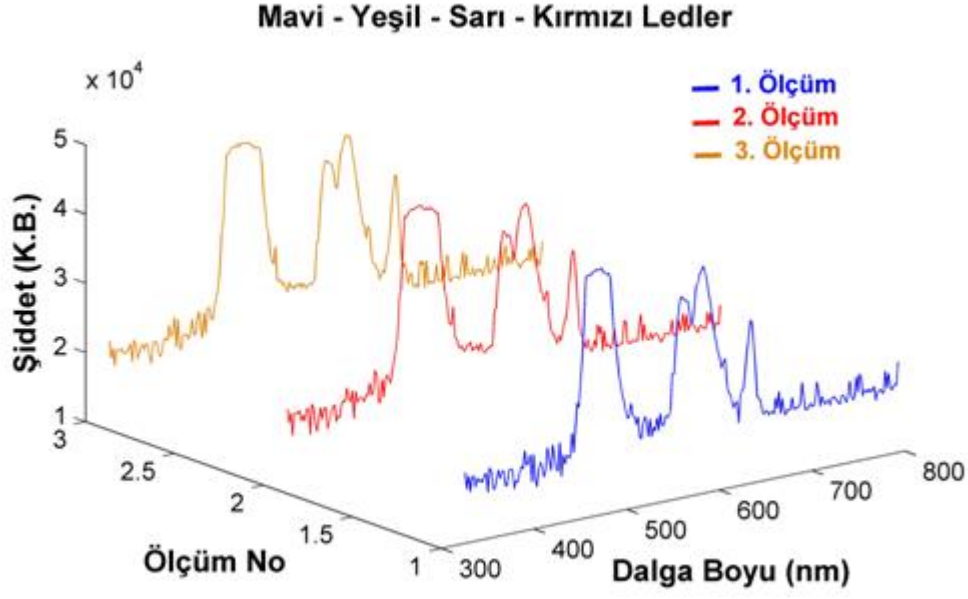
FWHM değerinin emisyon şiddeti ile değişimini inceleyebilmek ve farklı şiddetlerde emisyonlar elde edebilmek amacıyla emisyon kaynağı sensör modülünden belli mesafelerdeki konumlara yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.2’de gösterildiği gibi kaynak ile ölçüm sistemi arasındaki mesafe değiştikçe ölçülen emisyonun maksimum şiddetinde de bu değişimle orantılı biçimde bir farklılık gözlenmiştir.

Şekil 4.7, 4.8, 4.9 ve Çizelge 4.3 incelendiğinde elde edilen piklerin FWHM değerlerinin kaynağın emisyon şiddeti azaldıkça, azaldığı görülmüştür. Tüm bu veriler doğrultusunda tasarlanan lüminometrenin, taban sinyalinden ayırt edilebilir olması koşulu ile düşük şiddetli emisyonlar için FWHM değerinin yüksek şiddetli emisyonlarınkinden daha küçük olduğu görülmüştür. Bu da bu sistemin, taban sinyalinden ayırt edilebilir olması koşulu ile, birbirine yakın iki dalgaboylu emisyonu, düşük şiddetli emisyonlarda yüksek şiddetli emisyonlara göre daha iyi ayırt edebildiğini göstermektedir.

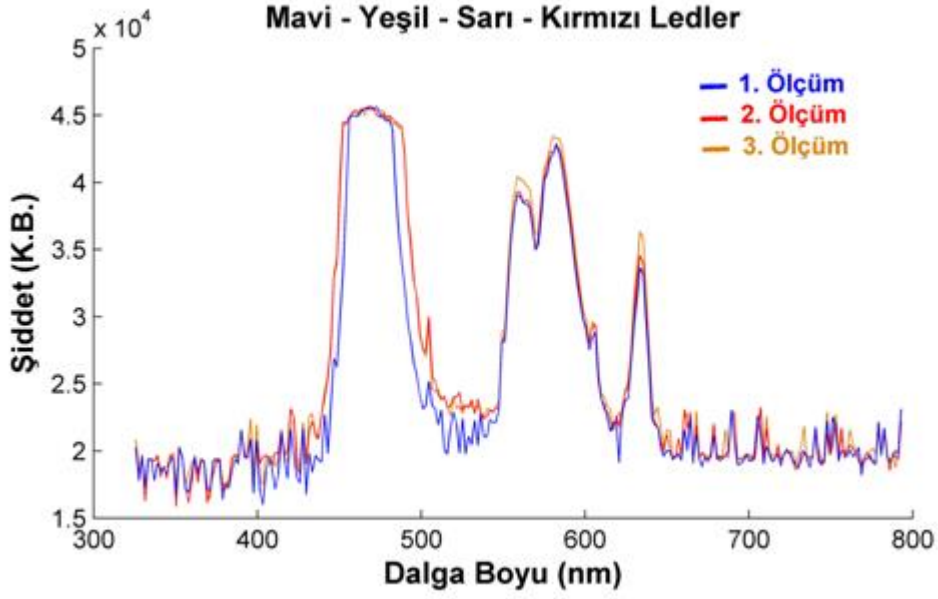
Florimetri çalışmalarında numunelerde analitlerin eser miktar tayini yapılırken, örnekten gelen emisyonların şiddetlerinin düşük olması ve yapılan ön denemeler sonucunda, tasarlanan lüminometrenin düşük emisyon şiddetlerinde daha etkin algılama yapabilmesi, bu sistemin florimetri çalışmalarında kullanılabilme olasılığını arttırmıştır.

4.1.3 Farklı dalgaboylarındaki ledler ile aynı anda yapılan denemeler

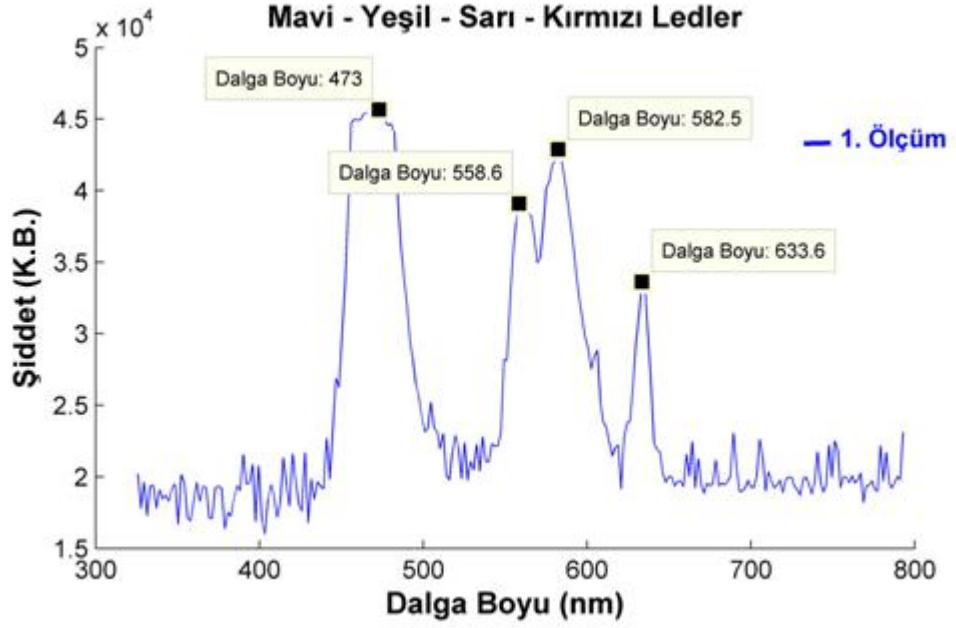
Siyah bir kutu içerisine yerleştirilen mavi, sarı, yeşil ve kırmızı ledler aynı anda çalıştırılarak sistem bu karışık kaynaktan sağlanan farklı dalgaboyuna sahip emisyonlara eş zamanlı olarak maruz bırakılmıştır. Yapılan ölçüm sonuçları Şekil 4.10, 4.11 ve 4.12’de gösterilmiştir.



Şekil 4.10 Mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler ile aynı anda yapılan deney sonuçları.



Şekil 4.11 Mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler ile aynı anda yapılan deney sonuçlarının üst üste gerilmiş hali.



Şekil 4.12 Mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler için belirlenen dalga boyları.

Şekil 4.10'da da gösterilen tekrarlı ölçümlerin sonuçları, daha iyi algılanabilmesi açısından Şekil 4.11'de üst üste getirilmiştir. Bu testler de sistemin tekrarlı ölçümlerde kararlı sonuç verdiğini göstermektedir. Ayrıca Şekil 4.12'de de görüldüğü üzere tasarlanan lüminometre sistemi farklı dalga boylarına sahip emisyonları aynı anda algılayabilme yeteneğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı sistemin, belli bir dalgaboyunda uyarılan örneğin farklı emisyonlar yapması durumunda bu farklı emisyon kaynaklarını belirleyebilme özelliğine sahip olabileceği düşünülmektedir.

4.2 Ölçüm Belirsizliğinin Tespit Edilmesi

Lüminometrenin, tekrarlı ölçüler için ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında fluran – uranyum çözeltileri ile ilgili prosedür kullanılarak (bölüm 3.4 ve 3.5.2'de anlatıldığı gibi) ölçümler yapılmıştır. 5, 10 ve 15ppb'lik uranyum konsantrasyonları için alınan ölçümlerin sonuçları ve bu sonuçların standart sapma değerleri, ortalama değerleri, ve bağıl hata değerleri Çizelge 4.4, 4.5 ve 4.6'de verilmiştir. Yapılan ölçümlere ait dalgaboyu – şiddet spektrumları da Şekil 4.13, 4.14 ve 4.15'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.4 5ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçümlerin istatistiki verileri

Ölçüm No	x (K.B.)		
1	26588	Ortalama Şiddet (K.B.)	26607,7
2	26895	Minimum Şiddet (K.B.)	26050
3	26735	Maximum Şiddet (K.B.)	26951
4	26778	Standart Sapma	$\pm 274,6$
5	26652	Bağıl Hata	$\% \pm 1,03$
6	26050		
7	26264		
8	26579		
9	26585		
10	26951		

Çizelge 4.5 10 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçümlerin istatistiki verileri

Ölçüm No	x (K.B.)		
1	27264	Ortalama Şiddet (K.B.)	27412,4
2	27109	Minimum Şiddet (K.B.)	27109
3	27420	Maximum Şiddet (K.B.)	27673
4	27247	Standart Sapma	$\pm 195,9$
5	27579	Bağıl Hata	$\% \pm 0,71$
6	27673		
7	27553		
8	27663		
9	27352		
10	27264		

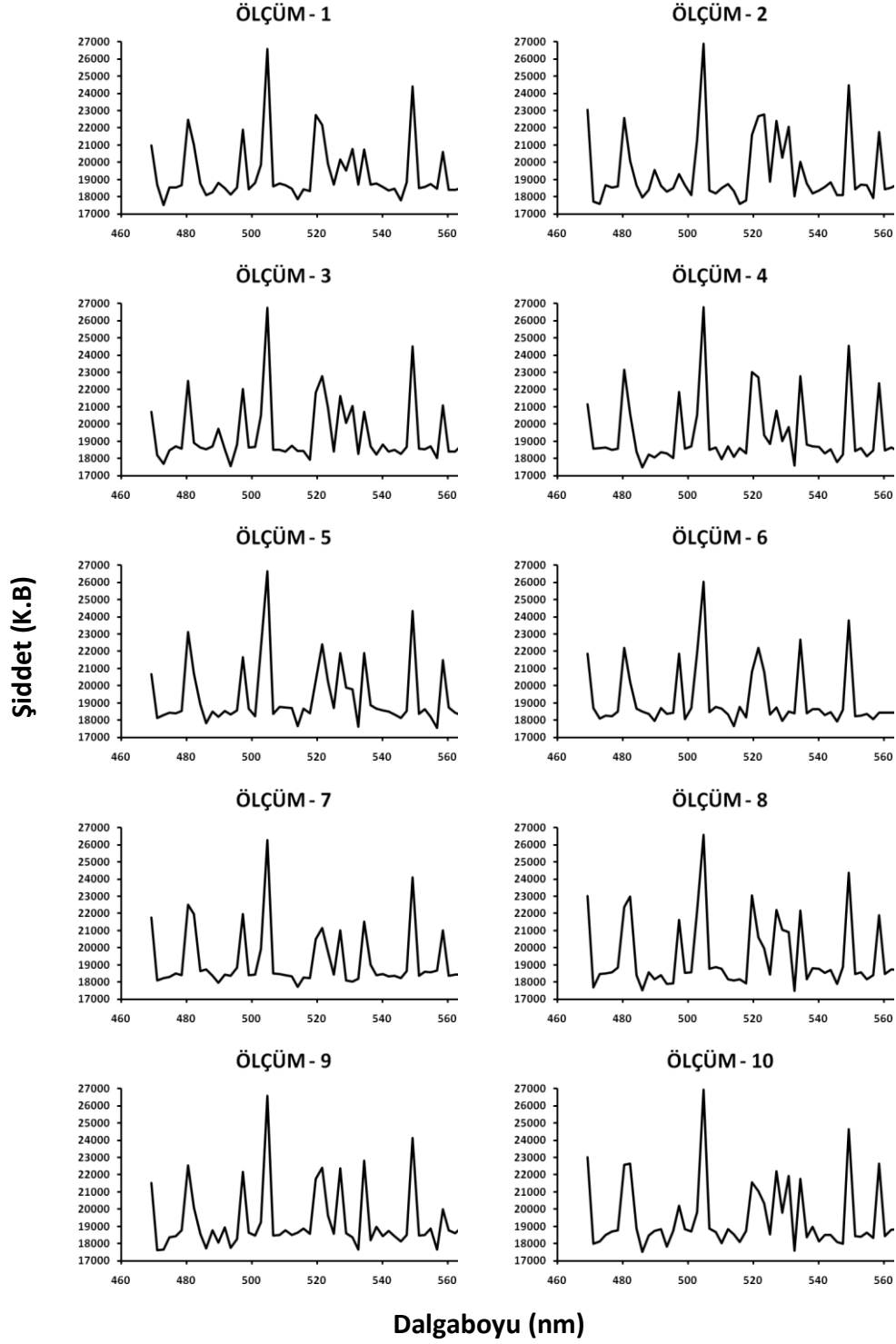
Çizelge 4.6 15 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçümlerin istatistikî verileri

Ölçüm No	x (K.B.)		
1	27967	Ortalama Şiddet (K.B.)	28294,1
2	28093	Minimum Şiddet (K.B.)	27967
3	28260	Maximum Şiddet (K.B.)	28592
4	28077	Standart Sapma	$\pm 219,4$
5	28592	Bağıl Hata	$\% \pm 0,77$
6	28542		
7	28288		
8	28266		
9	28587		
10	28269		

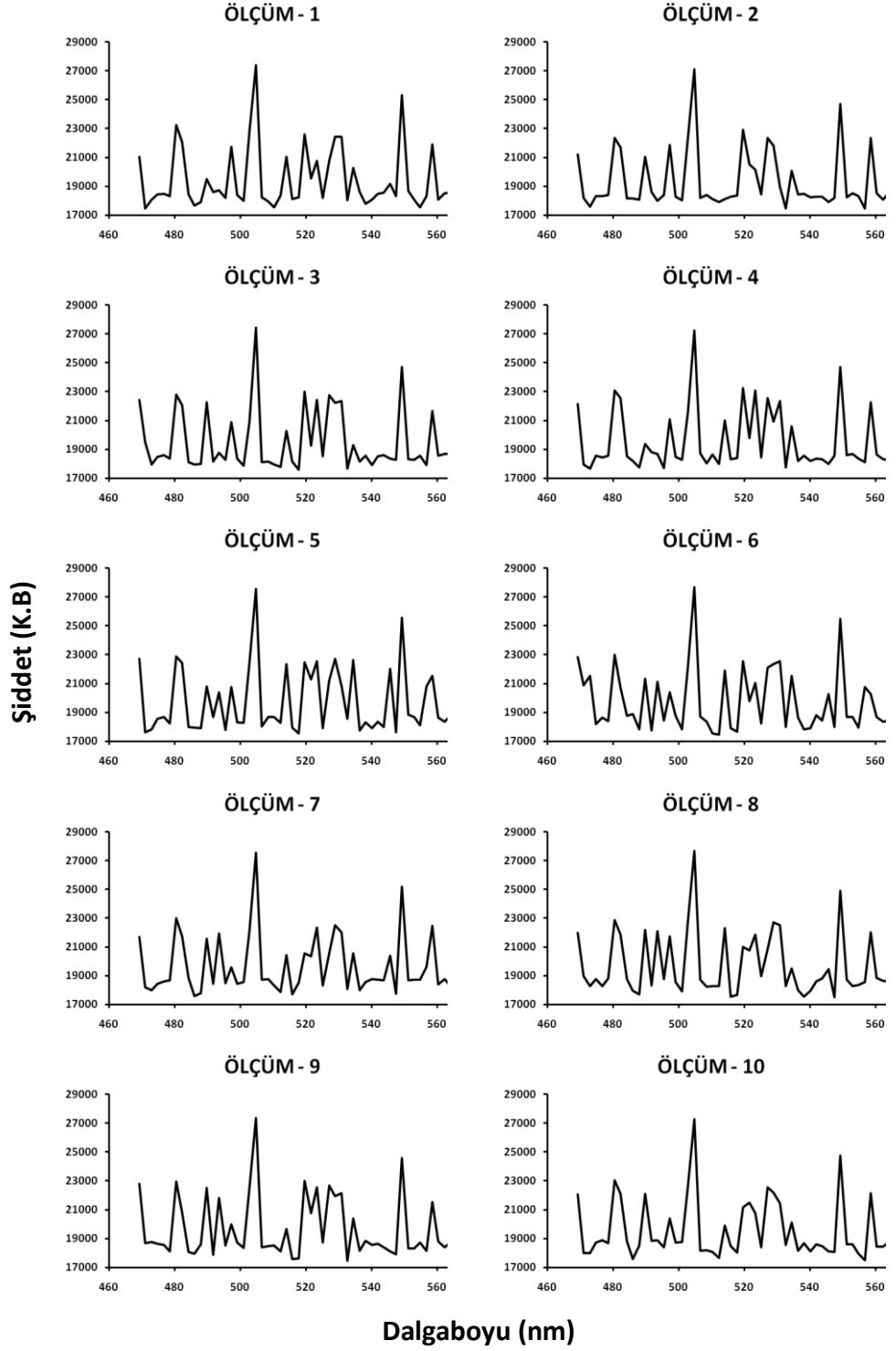
Çizelge 4.4, 4.5 ve 4.6'ya bakıldığında, 5 ppb'lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için yapılan deneyler sonucunda ölçülen şiddet değerlerinin standart sapması 274,6 ve bağıl hatası (bağıl standart hata) $\% \pm 1,03$, 10 ppb'lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için yapılan deneyler sonucunda ölçülen şiddet değerlerinin standart sapması 195,9 ve bağıl hatası (bağıl standart hata) $\% \pm 0,71$, 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için de yapılan deneyler sonucunda ölçülen şiddet değerlerinin standart sapması 219,4 ve bağıl hatası (bağıl standart hata) $\% \pm 0,77$ olarak bulunmuştur.

Bu verilere bakarak, tasarımı gerçekleştirilen lüminometre sistemi ile 5 - 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonu aralığında yapılacak ölçümlerde, ölçülen şiddet değerinin olması gereken şiddet değerinden $\% \pm 0,71$ ile $\% \pm 1,03$ aralığında sapma gösterebileceği belirlenmiştir.

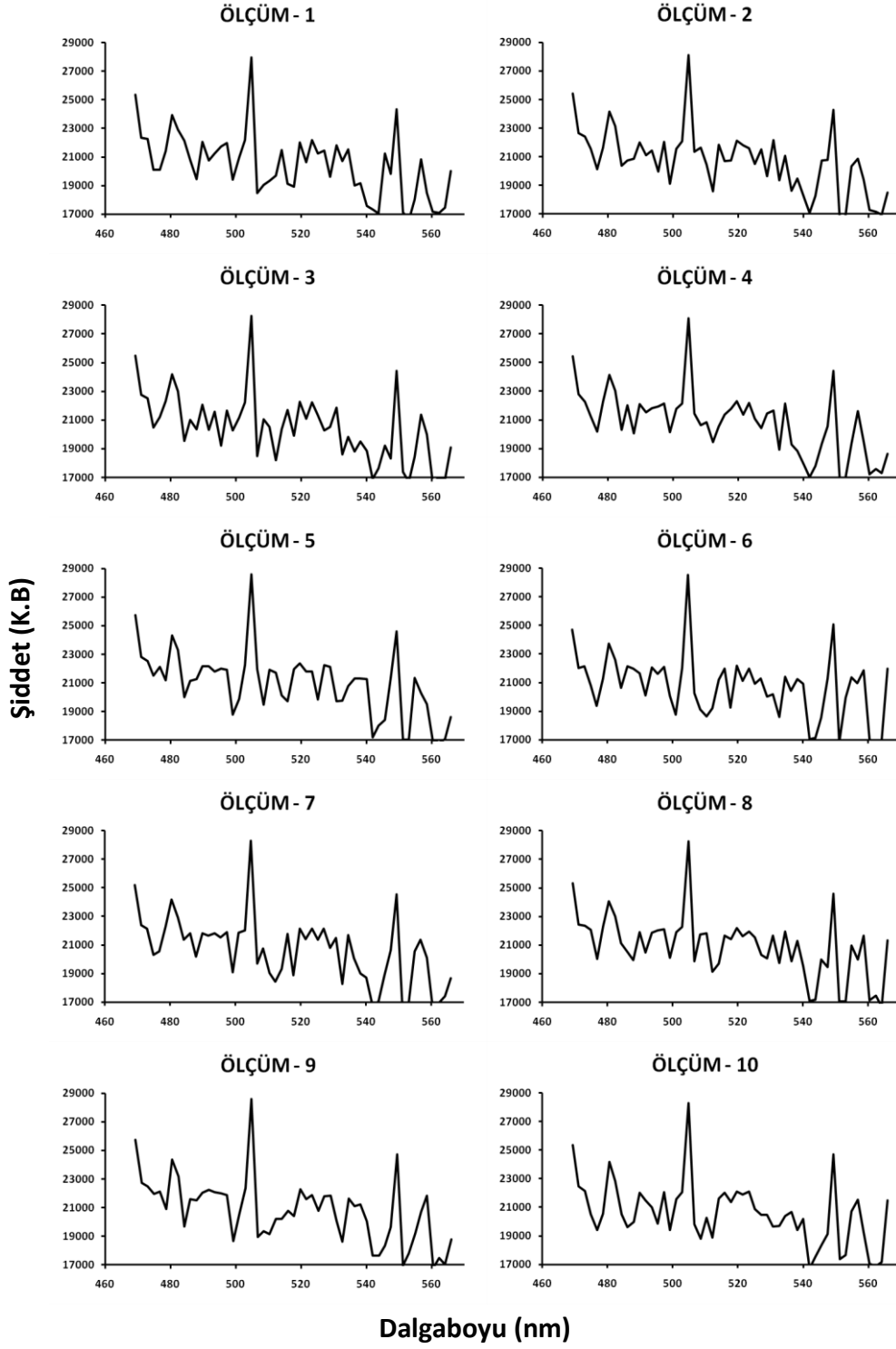
Tasarımı gerçekleştirilen lüminometrenin, 5 ile 15 ppb aralığındaki uranyum konsantrasyonları için $\% 0,71$ ile $\% 1,03$ hata oranı arasında ölçüm yapabiliyor olması, bu konsantrasyon aralıklarında sistemin düzgün şekilde çalışacağını göstermiştir.



Şekil 4.13 5 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçüm spektrumları.



Şekil 4.14 10 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçüm spektrumları.

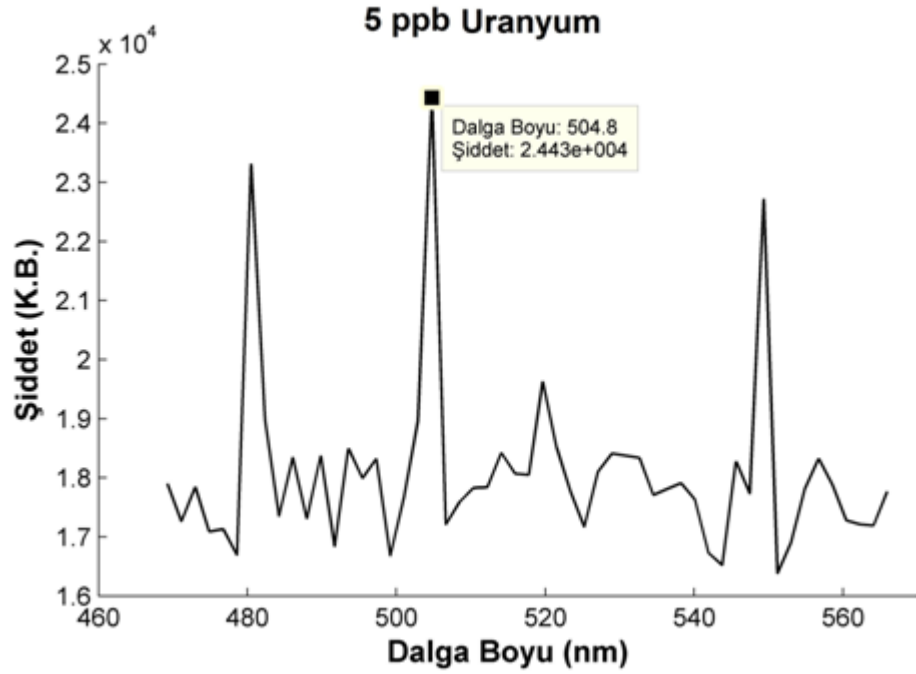


Şekil 4.15 15 ppb U ile fluran karışım için tekrarlanan ölçüm spektrumları.

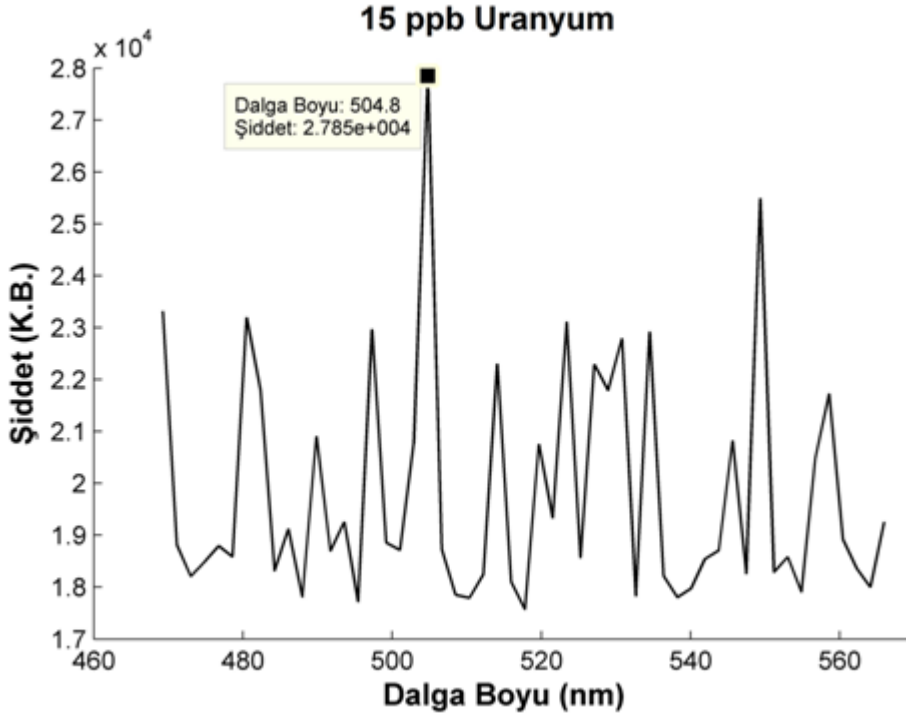
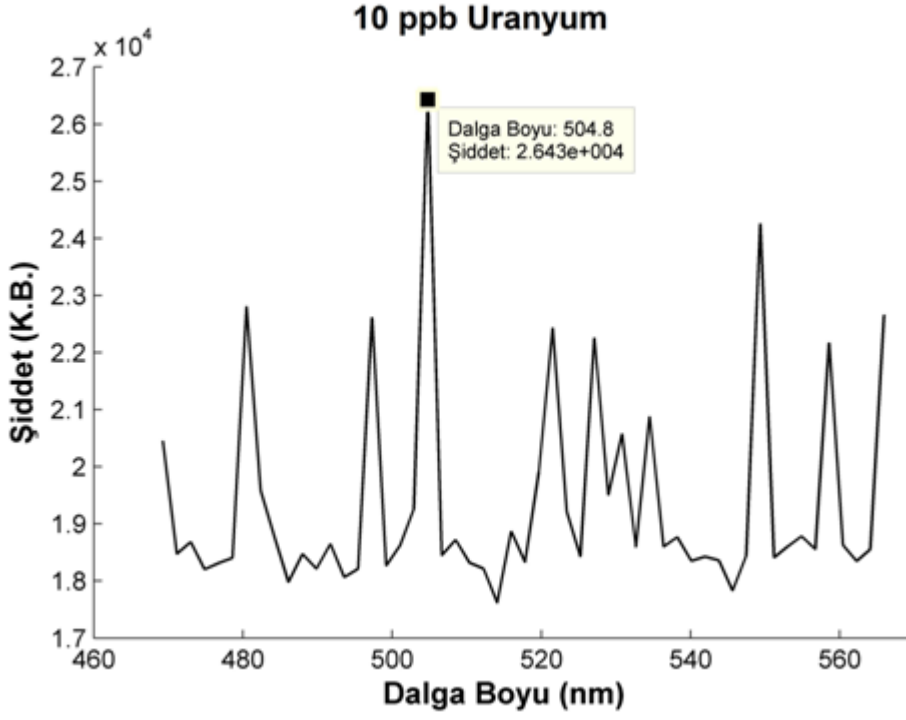
4.3 Uranyum Sıvı Faz Çalışmaları

4.3.1 Organik çözeltilerde uranyumun saptanması

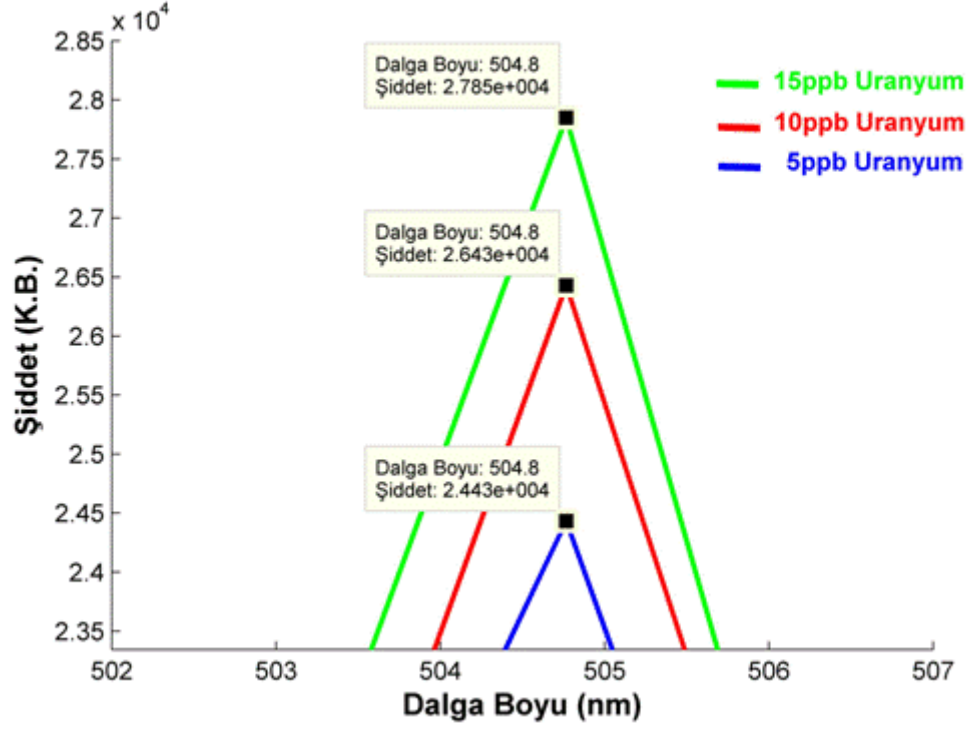
Hazırlanan 5, 10 ve 15ppb'lik uranyum sulu çözeltileri için ayrı ayrı, %30'luk TBP-Kerosen karışımı ile solvent ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Nitratlanmış TBP-kerosen organik fazına geçmiş olan uranyum miktarları, uranyum analizörünün uv lazer ışınına maruz bırakıldıktan sonra meydana gelen emisyonlar, lüminometre ile ölçülerek tespit edilmeye çalışılmıştır ve sonuçlar Şekil 4.16, 4.17 ve 4.18'de gösterilmiştir.



Şekil 4.16 5ppb uranyum içeren organik çözeltinin spektrumu.

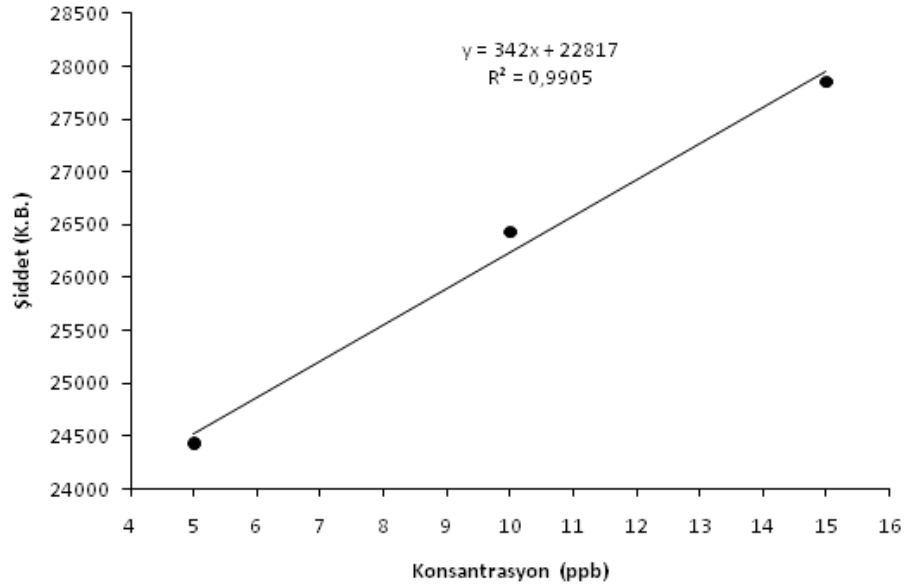


Bu üç farklı uranyum konsantrasyonunda yapılan ölçümlerin sonuçlarının bir biri ile daha iyi kıyaslanabilmesi amacıyla 504,8 nm’de ölçülen emisyonların şiddetleri tek bir grafik üzerinde Şekil 4.19 da verilmiştir.



Şekil 4.19 Organik çözeltilerde 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonları için elde edilen spektrumların üst üste getirilmiş hali.

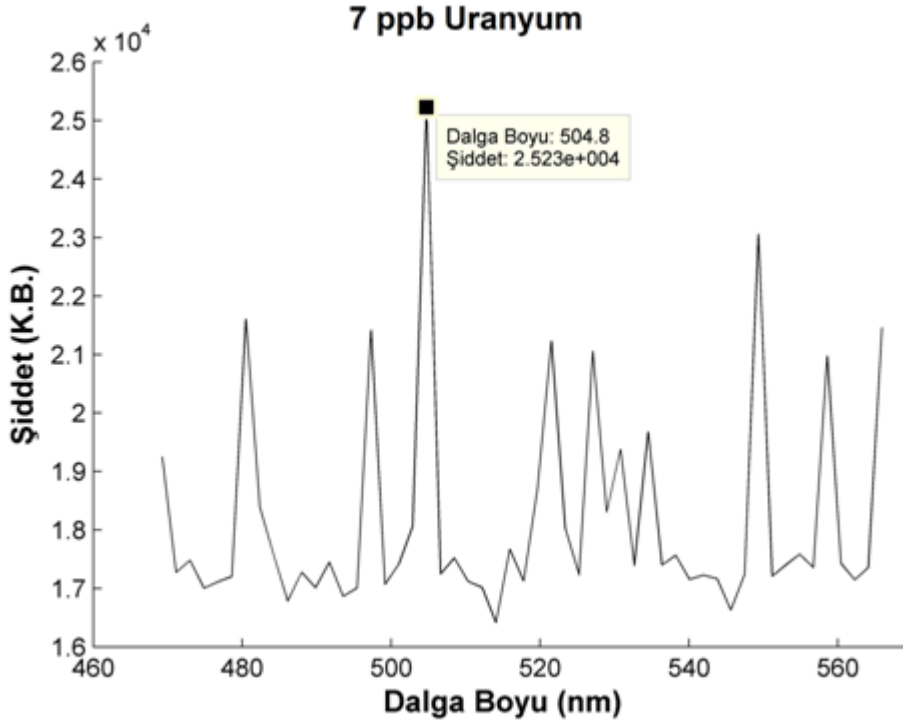
Ölçüm sonucunda 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonuna karşılık gelen ve 504,8 nm'deki emsion şiddetlerinin değerleri için çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4.20 de gösterilmiştir.



Şekil 4.20 Organik çözeltilerden elde edilen sonuç için kalibrasyon grafiği.

Şekil 4.19 incelendiğinde lüminometrenin 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonlarına karşı ürettiği sinyallerin birbirinden ayırt edilebilir düzeyinde olduğu görülmektedir. Ayrıca Şekil 4.20'de de gösterildiği gibi, nitratlanmış TBP-kerosen organik fazında düşük düzey uranyumun saptanmasında elde edilen verilerden çizilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı (R^2) 0,9905 olarak hesaplanmıştır. Kalibrasyon eğrisinin doğrusal olduğu ve korelasyon değerinin 1'e çok yakın olması sistemin bu prosedür ile ppb seviyesinde algılama yapabildiğinin bir göstergesidir.

Hazırlanan 7ppb'lik uranyum sulu çözeltisine solvent ekstraksiyon işlemi yukarıda anlatıldığı gibi uygulanmıştır. Organik faza geçmiş uranyum, uranyum analizörünün uv lazer ışınına maruz bırakıldıktan hemen sonra, meydana gelen emisyonlar lüminometre ile ölçülmüş ve elde edilen floresans spektrumu Şekil 4.21'de gösterilmiştir.



Şekil 4.21 7ppb uranyum içeren organik çözeltinin spektrumu.

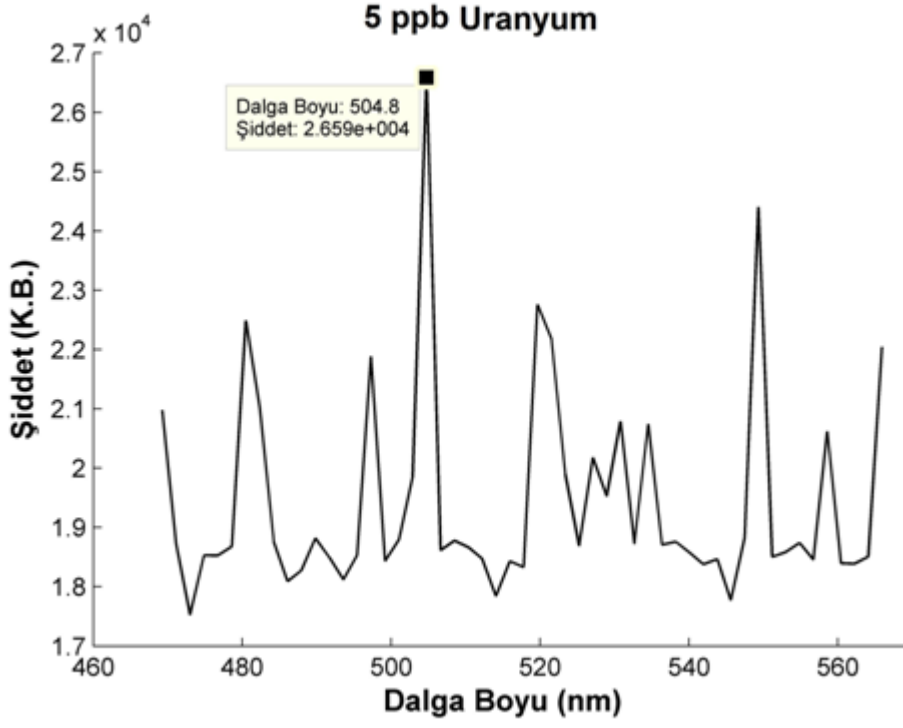
7ppb'lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için okunan şiddet değeri 25230 (K.B.)'dır. Bu değer kalibrasyon denkleminde, $y=342x + 22817$, "y" yerine konulup konsantrasyon değeri, "x", denklemden hesaplanmıştır. Ölçülen konsantrasyon değeri, "x", 7,06 ppb olarak bulunmuştur. Bu durumda bu ölçüm için yüzde hata, $(7 - 7,06)/7 \cdot 100 = -0,86$; % -0,86 olarak hesaplanabilir.

Bu veriler algılama sisteminin, 5 ile 15ppb aralığında uranyum konsantrasyonunu, bu kısımda belirtilen metot ile tespit edebildiğini göstermiştir.

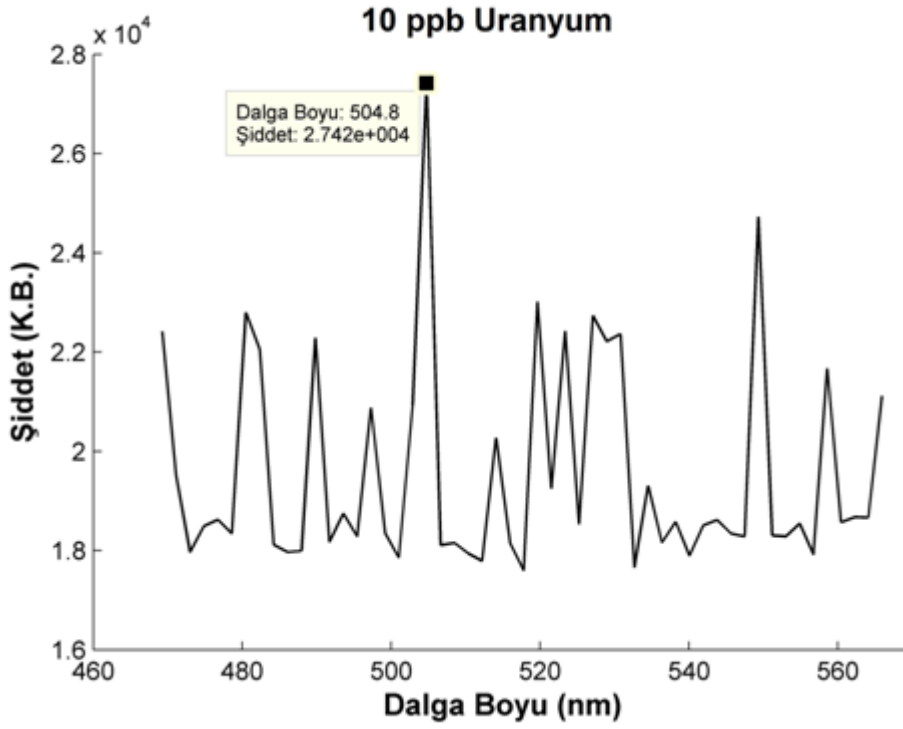
4.3.2 Uranyumun sulu çözeltide saptanması

Çalışmanın bu aşamasında tasarımı gerçekleştirilen lüminometre ile sulu fazdaki uranyumun saptanmasına çalışılmıştır. Bu amaçla daha önce hazırlanan düşük derişimli (5-15 ppb) uranyum çözeltilerinden 5 mL pipetle çekilerek kuvartz kuvvet içerisine ilave edilmiş ve daha sonra üzerine 1 mL fluran ilave edilerek karıştırılmıştır. Kuvet uranyum analizörünün örnek yuvasına yerleştirilmiş ve 1 dakika beklendikten sonra azot lazere (337.7 nm) maruz bırakılmış ve bu esnada ölçümler yapılmıştır. Ölçüm sonuçları Şekil 4.22, 4.23 ve 4.24'de verilmiştir.

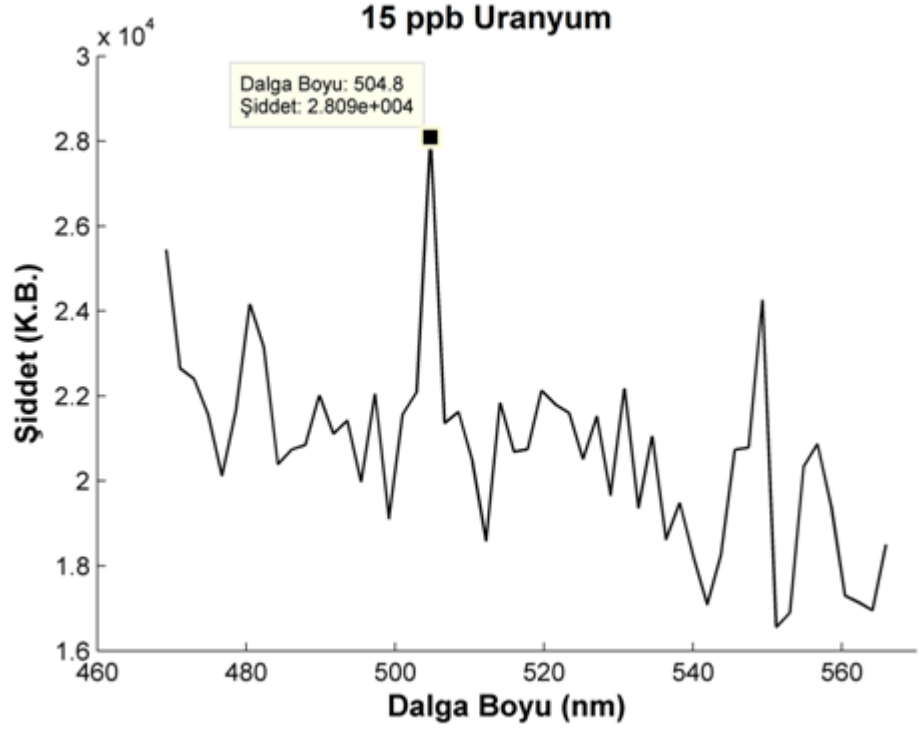
Bu üç farklı konsantrasyonda yapılan ölçümlerin sonuçlarının bir biri ile kıyaslanabilmesi için Şekil 4.25'de, 504,8 nm'de ölçülen emisyonların şiddetleri tek bir grafik üzerinde gösterilmiştir.



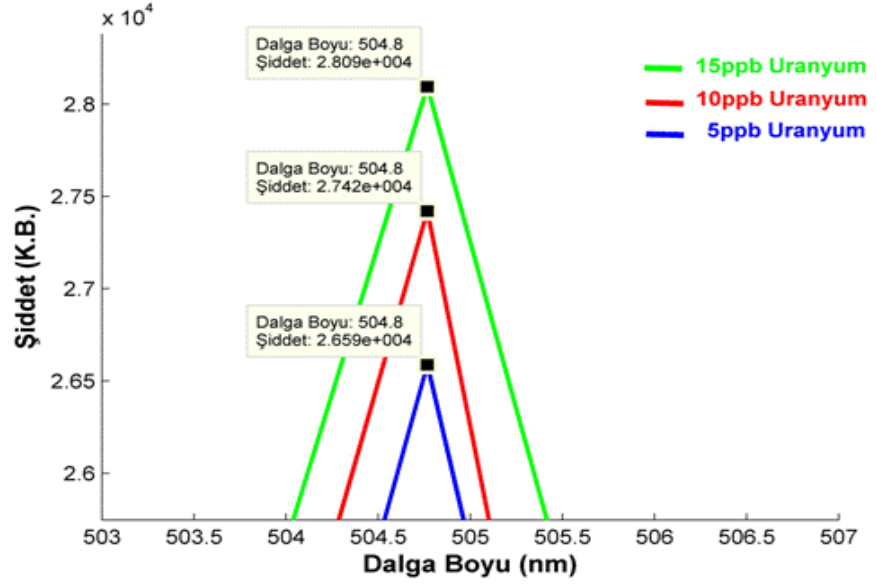
Şekil 4.22 5ppb uranyum içeren sulu çözeltinin spektrumu.



Şekil 4.23 10ppb uranyum içeren sulu çözeltinin spektrumu.

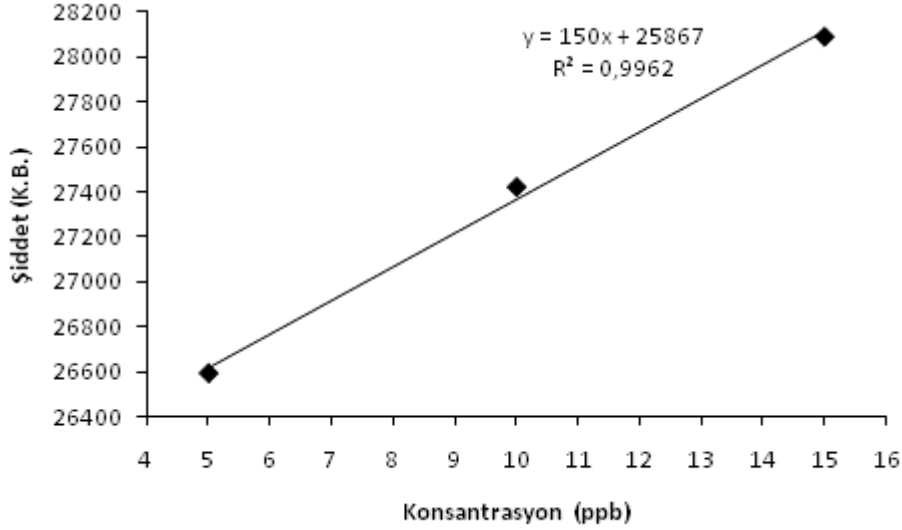


Şekil 4.24 15ppb uranyum içeren sulu çözeltinin spektrumu.



Şekil 4.25 Sulu çözeltilerde 5,10 ve 15ppb'lik uranyum konsantrasyonları için elde edilen spektrumların üst üste getirilmiş hali.

Ölçüm sonucunda 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonuna karşılık gelen 504 nm'deki emisyon şiddetlerinin değerleri için çizilen kalibrasyon eğrisi Şekil 4.26 de gösterilmiştir.

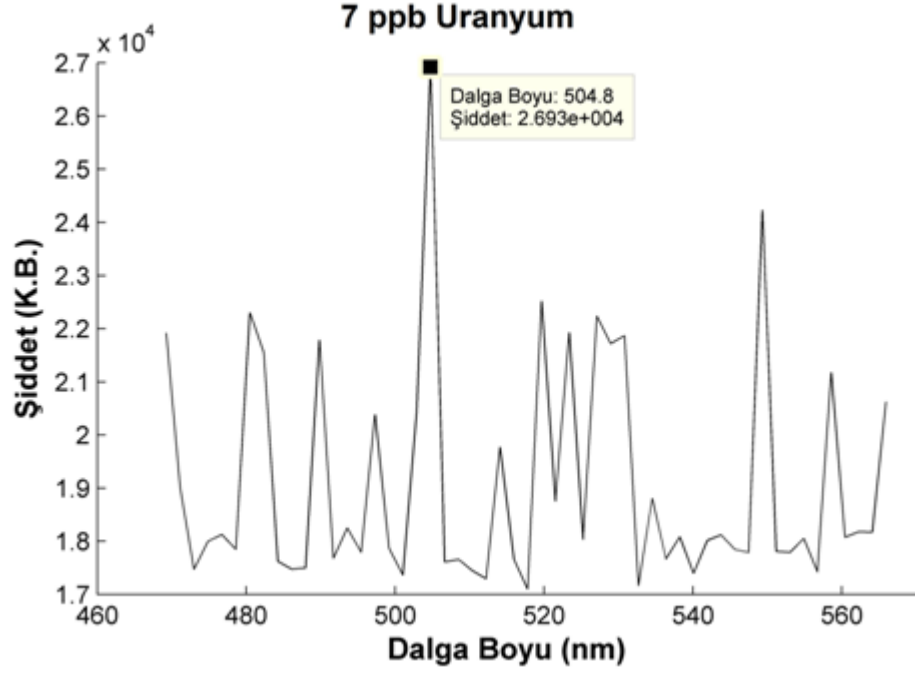


Şekil 4.26 Sulu çözeltilerden elde edilen sonuç için kalibrasyon grafiği.

Şekil 4.25 incelendiğinde bu prosedür için lüminometrenin 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonlarına karşı üretilen sinyallerin birbirinden ayırt edilebilir düzeyde olduğu görülmektedir.

Ayrıca Şekil 4.26'da da gösterildiği gibi bu prosedür için aynı uranyum çözeltileri ile yapılan kalibrasyon sonucunda korelasyon katsayısı R^2 'nin 0,9726 olarak hesaplandığı görülmektedir. Kalibrasyon eğrisinin doğrusal olması ve korelasyon katsayısının da bire yakın olması tasarlanan sistemin bu konsantrasyon aralığında, bu prosedür kullanılarak ppb seviyesinde uranyum konsantrasyonlarını algılayabildiğini göstermiştir.

Hazırlanan 7 ppb'lik uranyum sulu çözeltisi yukarıda anlatılan ölçüm öncesi yapılan kimyasal işlemler için tekrarlanmıştır. Hazırlanan örnek uranyum analizörünün uv lazer ışınına maruz bırakıldıktan hemen sonra, meydana gelen emisyonlar lüminometre ile ölçülmüş ve elde edilen floresans spektrumu Şekil 4.27'de gösterilmiştir.



Şekil 4.27 7ppb uranyum içeren sulu çözeltinin spektrumu.

Uranyum konsantrasyonu 7 ppb olan çözelti için okunan şiddet değeri 26925 (K.B.)'dir. Bu değer kalibrasyon denkleminde, $y=150x + 25867$, "y" yerine konulup konsantrasyon değeri, "x", denklemden hesaplanmıştır. Ölçülen konsantrasyon değeri, "x", 7,05 ppb olarak bulunmuştur. Bu durumda bu ölçüm için yüzde hata, $(7 - 7,05)/7) * 100 = -0,71$; % -0,71 olarak bulunmuştur.

Bu veriler algılama sisteminin, 5 ile 15ppb aralığında uranyum konsantrasyonunu, bu kısımda belirtilen metot ile tespit edebildiğini göstermiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Tasarlanan algılama sistemi mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ledler ile test edilmiş ve her bir led için üç kez ölçüm yapılmıştır. Ledler ile yapılan tekrarlı denemeler sonucunda, hem ışık kaynaklarının dalga boyları hem de kullanılan ışık kaynakların emisyonlarının şiddetleri algılama sistemi tarafından doğru ve kararlı biçimde algılanabilmiştir.

- Kullanılan emisyon kaynağının yapmış olduğu emisyonun FWHM değerinin, emisyon şiddeti ile değişimini inceleyebilmek için değişik şiddetlerde emisyonlar elde edebilmek amacıyla emisyon kaynağı sensör modülünden belli mesafelerdeki konumlara yerleştirilerek ölçüm yapılmıştır. Kaynak ile ölçüm sistemi arasındaki mesafe değiştikçe ölçülen emisyonun maksimum şiddetinde bu değişimle orantılı bir farklılık gözlenmiştir. Ölçümler sonucunda elde edilen piklerin FWHM değerlerinin, kaynağın emisyon şiddeti azaldıkça, azaldığı görülmüştür. Tasarlanan lüminometrenin, taban sinyalinden ayırt edilebilir olması koşulu ile düşük şiddetli emisyonlar için FWHM değerinin yüksek şiddetli emisyonlarınkinden daha küçük olduğu görülmüştür.

- Siyah bir kutu içerisine yerleştirilen mavi, sarı, yeşil ve kırmızı ledler aynı anda çalıştırılarak sistem bu karışık kaynaktan sağlanan farklı dalgaboyuna sahip emisyonlara eş zamanlı olarak maruz bırakılmıştır. Yapılan testler sonucunda tasarlanan lüminometre farklı dalga boylarına sahip emisyonları aynı anda algılayabilme yeteneği olduğu belirlenmiştir.

- Lüminometre sisteminin, tekrarlı ölçüler için ölçüm belirsizliğinin hesaplanmasında fluran – uranyum çözeltileri ile ilgili prosedür kullanılarak (Bölüm 3.5.2’de anlatıldığı gibi) ölçümler alınmıştır. Ölçümlerin sonuçlarına bakıldığında, 5 ppb’lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için yapılan deneyler sonucunda ölçülen şiddet değerlerinin standart sapması 274,6 ve bağıl hatası (bağıl standart hata) $\% \pm 1,03$ olarak bulunmuştur. 10 ppb’lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için yapılan deneyler sonucunda ölçülen şiddet değerlerinin standart sapması 195,9 ve bağıl hatası (bağıl standart hata) $\% \pm 0,71$ olarak bulunmuştur.

15 ppb'lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için de yapılan deneyler sonucunda ölçülen şiddet değerlerinin standart sapması 219,4 ve bağıl hatası (bağıl standart hata) $\% \pm 0,77$ olarak bulunmuştur.

• Hazırlanan 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum sulu çözeltilerine ayrı ayrı, %30'luk TBP-Kerosen karışımı ile solvent ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Nitratlanmış TBP-kerosen organik fazına geçmiş olan uranyum miktarları, uranyum analizörünün uv lazer ışınına maruz bırakıldıktan hemen sonra meydana gelen emisyonların algılama sistemi ile ölçümleri yapılmıştır. Ölçüm sonucunda 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum konsantrasyona karşılık gelen, 504,8 nm'deki emisyon şiddetlerinin değerleri için sistemin kalibrasyonu yapılmıştır. Algılama sisteminin 5, 10 ve 15 ppb'lik uranyum konsantrasyonlarına karşı ürettiği sinyallerin birbirinden ayırt edilebilir düzeyde olduğu görülmüştür. Elde edilen verilerden çizilen kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı (R^2) 0,9905 olarak hesaplanmıştır. Hazırlanan 7ppb'lik uranyum sulu çözeltisine %30'luk TBP-Kerosen karışımı ile solvent ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Organik faza geçmiş uranyum, uranyum analizörünün uv lazer ışınına maruz bırakıldıktan hemen sonra, meydana gelen emisyonlar algılama sistemi ile ölçülmüştür. 7 ppb'lik uranyum konsantrasyonuna sahip çözelti için okunan şiddet değeri 25230 (K.B.) olarak bulunmuştur. Bu değer kalibrasyon denkleminde, $y=342x + 22817$, "y" yerine konulup konsantrasyon değeri, "x", denklemden hesaplanmıştır. Sonuç olarak lüminometre 7 ppb'lik uranyum konsantrasyonunu 7,06 ppb olarak ölçmüş ve sistemin yüzde hatası $\% -0,86$ olarak hesaplanmıştır.

• 5 - 15 ppb gibi düşük konsantrasyonlu sulu uranyum çözeltileri fluran ile muamele edildikten sonra UA-3 uranyum analizörü ile kombine edilmiş lüminometre ile 504,8 nm'de ki emisyon şiddet değerleri ölçülmüş ve kullanılan yöntem için kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

• Sulu çözelti ortamında hazırlanan düşük düzey uranyum konsantrasyonları $\% -0,71$ hata ile ölçülmüştür.

- Yapılan çalışmalar sonucunda sulu ve organik ortamlarda lüminometrenin uranyumu 5 ile 15 ppb aralığında ayırt edebildiği ve ayrıca standart sapmalarının düşük olduğunu göz önüne aldığımızda tekrarlanabilir sonuçlar elde edildiği kanısındayız.

Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında sistemden daha iyi performans alınabilmesi için:

- Lüminometre sisteminin sıvı numunelerdeki uranyum konsantrasyonu için minimum deteksiyon limitleri tespit edilerek, sistemin sıvı numunelerdeki uranyum konsantrasyonu için alt ölçüm sınırları belirlenebilir.

- Sisteme etki eden elektronik gürültü sinyalleri iyi bir şekilde bastırılmalıdır. Bunun için sistemin elektronik kısmına bir elektronik filtre eklenebilir. Böylece sistemin CMOS modülden aldığı sinyaller ile bu sinyallere etki eden elektronik gürültü sinyalleri birbirinden ayrıştırılabilir. Bu sayede sistemin S/N oranı artırılabilir ve sistemin deteksiyon limitleri güçlendirilebilir.

- Numunenin uyarıldıktan sonra verdiği emisyon mercekle yardımcı ile CMOS görüntü sensörü modülünün girişine odaklanabilir. Böylece floresans malzemenin çıkıp CMOS görüntü sensör modülüne ulaşamayan foton sayısı artırılabilir. Bu sayede kuantum verimi düşük floresans özellik gösteren malzemeler için de düşük konsantrasyonlarda algılama yapılabilir ve sistemin deteksiyon limitleri güçlendirilebilir.

- Foton duyarlılığı daha yüksek bir CMOS sensör kullanılabilir. Daha az fotonla daha iyi bir çıkış sinyali üretebilecek bir CMOS sensör kullanılarak, kuantum verimi düşük floresans malzemelerden gelen emisyonların daha iyi algılanması ve daha düşük konsantrasyonlarda algılama yapılması sağlanabilir. Böylece sistemin deteksiyon limitleri de kuvvetlendirilmiş, minimum deteksiyon limiti daha aşağıya çekilmiş olur.

- Daha yüksek piksellik bir CMOS sensör kullanılabilir. Bu sayede sistemin dalga boyu ayırma gücü artırılabilir. Yani sistem birbirine yakın iki dalga

boyunda emisyon yapan iki farklı numuneyi bir birinden daha iyi ayırt edebilir. Özellikle çevresel örneklerde bir element tayin edilmeye çalışılırken numune içerisinde bulunan diğer elementlerden gelebilecek muhtemel girişimler bu sayede azaltılabilir.

- Enstitümüzde mevcut bulunan ancak SCINTREX firması tarafından servis verilmediğinden dolayı tarafımızca azot lazer kaynağı güncellenmesi yapılmış olan UA-3 uranyum analizörünün, bu tez kapsamında yapımı gerçekleştirilen lüminometre ile kombine biçimde çalıştırıldığı takdirde florimetrik olarak hem organik hem de sulu ortamda uranyumun analiz edilebilir olmasına olanak sağlayacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Analog Devices**, 2000, AD977/AD977A, Analog Devices, USA, 24p.
- Baoxin, L., Dongmei, W., Jiagen, L. and Zhujun, Z.**, 2006, Chemometrics-assisted simultaneous determination of cobalt(II) and chromium(III) with flow-injection chemiluminescence method, *Spectrochimica Acta Part A*, 65:67-72p.
- Battal, Y.B.**, 2006, Anyonik Polielektrolitlerin Sıgır Serum Albuminle Etkileşiminin Floresans Yöntemi ile İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimler Enstitüsü, 81s (yayımlanmamış).
- Beiser, A.**, 1997, Modern Fiziğin Kavramları, Akademi Yayın Hizmetleri, Ankara, 537s.
- Brand, L. and Johnson, M.L.**, 1997, Fluorescence Spectroscopy (Methods in Enzymology, Volume 278), Academic Press, New York, 628p.
- Boomer, D.W. and Powell, M.J.**, 1987, Determination of uranium in environmental samples using inductively coupled plasma mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, 59:2810-2813p.
- Caravajal, G.S., Mahan, K.I. and Leyden, D.E.**, 1982, The determination of uranium in natural waters at ppb levels by thin-film x-ray fluorescence spectrometry after coprecipitation with an iron dibenzylthiocarbamate carrier complex, *Analytica Chimica Acta*, 135:205-214p.
- Dmitri, K., Gulchekhray, Y.M., Natal'ya, P.P., Ramilya, R.L., Valeri, P.K., Waldemar, A., Alexei, V.T., Cong, C.Z., Wolfgang, K. and Sebastian, S.**, 2002, On the chemiluminescence in the oxidation of tetravalent uranium to the uranyl ion by dimethyldioxirane, *Luminescence*, 17:293-298p.
- Ender, E. ve Sarıkaya, Y.**, 2007, Temel Üniversite Kimyası, Gazi Kitabevi, Ankara, 1185s.
- Garcia-Campana, A.M. and Baeyens, R.G.W.**, 2001, Chemiluminescence in Analytical Chemistry, Marcel Dekker, New York, 636p

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hamamatsu**, 2008, Mini-spectrometer RC series, Hamamatsu Photonics K.K, Japan, 5p.
- Hamamatsu**, 2009, CMOS Linear Image Sensor S8377/S8378 Series, Hamamatsu Photonics K.K, Japan, 6p.
- Karpas, Z., Halicz, L., Roiz, J., Marko, R., Katorza, E., Lorber, A. and Goldbart Z.**, 1996, Inductively coupled plasma mass spectrometry as a simple, rapid, and inexpensive method for determination of uranium in urine and fresh water: comparison with LIF, *Health Physics*, 71:879-885p.
- Lakowicz, J.R.**, 2006, Principles of Fluorescence Spectroscopy, Springer Science + Business Media, New York, 960p.
- Lei, Y., Rifat, K., Vamsy, P.C., Member IEEE, Vijay, S.T. and Frank, V.B.**, 2009, Sensitivity-enhanced cmos phase luminometry system using xerogel-based sensors, *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, 3:304-311p.
- International Atomic Energy Agency (IAEA)**, 1992, Analytical Techniques In Uranium Exploration And Ore Processing, Vienna, 211p.
- Madbouly, M., Nassef, M.H., Diab, A. M. and El-Mongy, S.A.**, 2009, A comparative analysis of uranium ore using laser fluorimetric and gamma spectrometry techniques, *Journal of Nuclear and Radiation Physics*, 4:75-81p.
- Microchip**, 2008, PIC18F2525/2620/4525/4620 Data Sheet, Microchip Technology, USA, 412p.
- Molecular Expressions**, “Alexander Jablonski (1898-1980)”, <http://micro.magnet.fsu.edu/optics/timeline/people/jablonski.html> (Erişim Tarihi: 07 Mayıs 2013)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nagj, M., Makjanic, J., Orlic, I., Tomic, S. and Valkovic, V.,** 1986, Determination of uranium in sea water by x-ray fluorescence spectroscopy, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 97/2:373-380p.
- Özer, Ç. And Aslani, M. A. A.,** 2012, Designing of Electro-optic Device for Chemiluminescence and Study of Its Usability, *Proceedings International Conference Ecology-Interdisciplinary Science and Practice*, Bulgaria-Sofia , 25-26 October 2012, Part Two, 595-599p.
- PerkinElmer,** 2000, An Introduction to Fluorescence Spectroscopy, PerkinElmer, United Kingdom, 36p.
- Rendell, D.,** 1987, Fluorescence and Phosphorescence, John Wiley & Sons Inc, USA, 419p.
- Robinson, J.P.,** 2002, “Light and Fluorescence”, https://www.google.com.tr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CDEQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.cyto.purdue.edu%2Farchive%2Fflowcyt%2Feducate%2Fjpr%2Fpptfiles%2Flecture003.ppt&ei=mVJ9UZqrOMfssgb3qYCoAg&usg=AFQjCNEqFv6zISN0BPU8_ipu-t1UQe0BRA (Erişim Tarihi: 07 Mayıs 2013)
- Şener, L. T.,** 2006, Floresans Spektroskopisi Yöntemlerinin Biyolojik etkileşimlerin ve Enzimatik Etkinliklerin İncelenmesinde Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, İ.Ü. Sağlık Bilimler Enstitüsü, 75s (yayımlanmamış).
- Ude, L., Ben, C.P.H., Yu, C. S., Yuh, S., Yang, C.Y.W., Chiun, J.Y., Ming, D.K., Tung, K.W., Yaw, K.L., You, Z.H., Wensyang, H. and Chin, T.L.,** 2003, CMOS chip as luminescent sensor for biochemical reactions, *IEEE Sensors Journal*, 3:310-316p.
- Uyanık, A.,** 2012, Analitik Kimyacılar için İstatistik ve Kemometri , Pegem Akademi Yayıncılık, İstanbul, 368s.

ÖZGEÇMİŞ

29 Nisan 1985'te İzmir'in Bornova ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini İzmir'de tamamladı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümünden 2010 yılında mezun oldu ve aynı yıl Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Nükleer Teknoloji Bilim Dalında yüksek lisans yapmaya başladı. Lisans eğitimi sırasında Manisa Elginkan Vakfı'nda "PIC Mikrodenetleyiciler" üzerine eğitim aldı.

EKLER

Ek 1 Lüminometre sisteminin tamamlanmış devre kartı

Ek 1 Lüminometre Sisteminin Tamamlanmış Devre Kartı