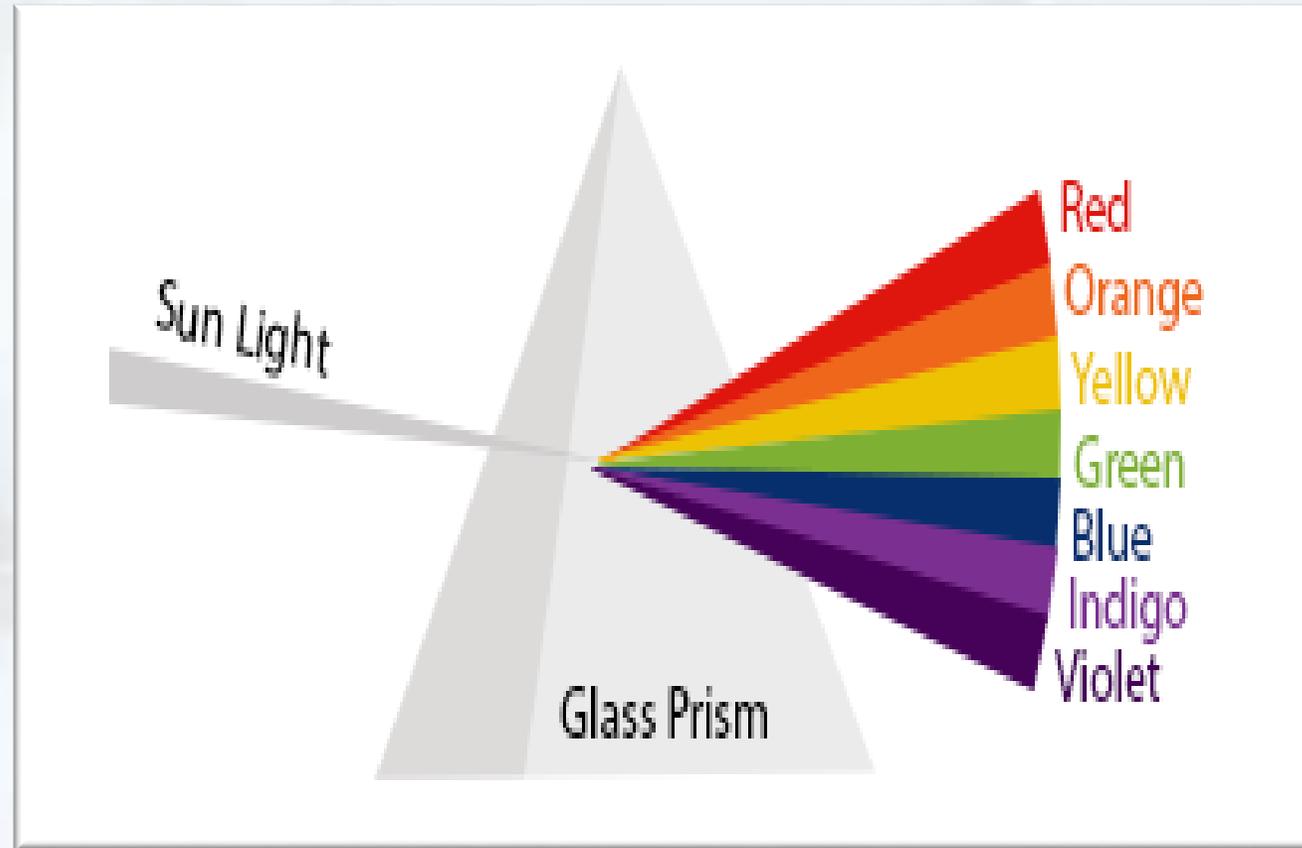


المحاضرة الثالثة في التحليل الآلي

د. شهامة عدي

يتكون الضوء المرئي من عدة ألوان وكل لون له طول موجة معين.
ويعتمد لون مادة ما على امتصاصها للون معين من ألوان الضوء
المرئي وعكسها ونفاذها لبقية الألوان ويعتمد امتصاص الأشعة في
المجالين المرئي وفوق البنفسجي على عدد وطريقة ترتيب الإلكترونات
الرابطة لجزيئات وأيونات المادة الماصة للضوء

مثال: يبدو محلول كبريتات النحاس الثنائي مثلًا أزرق وذلك لأن أيونات النحاس الثنائي تمتص اللون الأصفر من اللون الأبيض وتتمرر الضوء الأزرق.

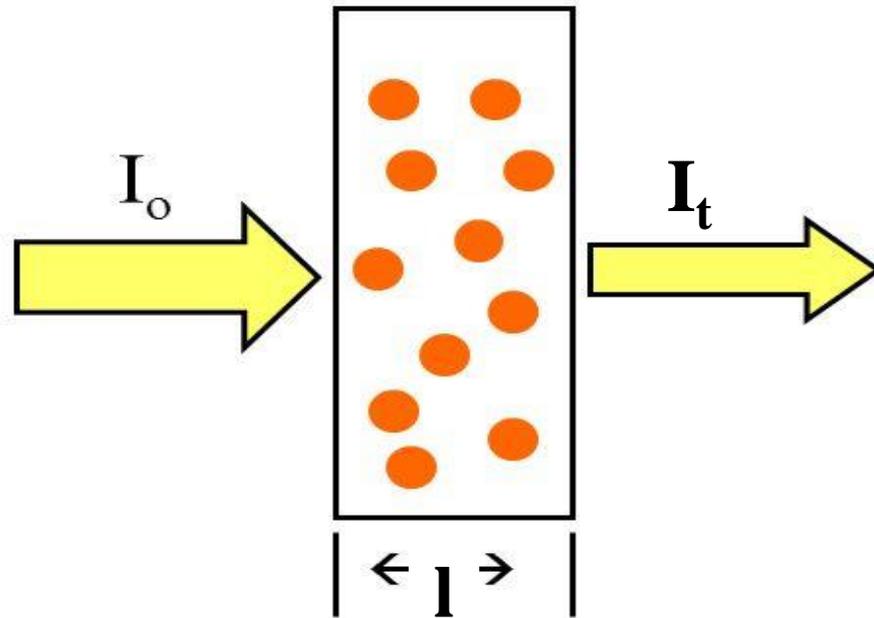


المدى التقريبي لأطوال موجات ألوان الضوء المرئي

طول الموجة الممتص (nm)	اللون الممتص	اللون النافذ (المتمم)
<380	ما فوق بنفسجي	
380- 450	بنفسجي	أخضر مصفر
450-500	أزرق	أصفر
500-570	أخضر مصفر	بنفسجي
570-590	أصفر	أزرق
590-620	برتقالي	أزرق مخضر
620-780	أحمر	أخضر مزرق

العلاقة بين الامتصاصية و النفاذية والتركيز (قانون بيير-لامبرت):
إذا سقطت حزمة من الأشعة في المجالين (UV-VIS) على محلول العينة
فإن جزء منها سوف يمتص من قبل جزيئات المادة والجزء الآخر سوف
ينفذ وشدة الأشعة النافذة I_t أقل دوماً من شدة الأشعة الواردة I_0 وترتبط
الأشعة النافذة بالأشعة الواردة بالعلاقة التالية:

Beer-Lambert Law



$$I_t = I_0 10^{-\epsilon l c}$$

I = light intensity

ϵ = extinction coefficient

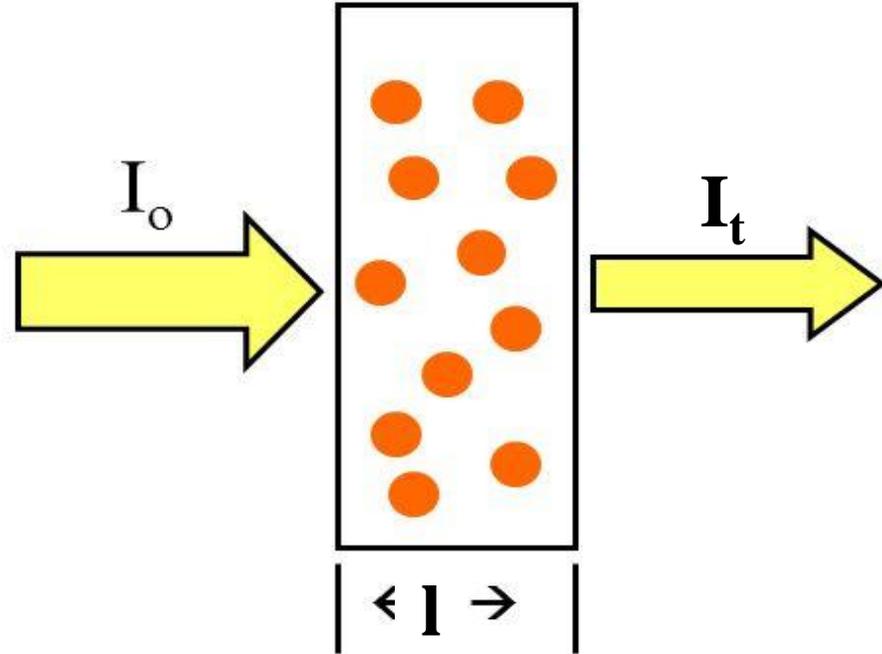
l = thickness

c = concentration

I_0 = Original intensity

$$\text{Absorption (A)} = \log (I_0/I_t) = \epsilon l c$$

Beer-Lambert Law



$$I_t = I_0 \cdot 10^{-\epsilon \cdot l \cdot C}$$
$$\log(I_t) = \log(I_0) - \epsilon \cdot l \cdot C$$
$$\log(I_0) - \log(I_t) = \epsilon \cdot l \cdot C$$
$$\log(I_0/I_t) = \epsilon \cdot l \cdot C$$
$$(A) = \epsilon \cdot l \cdot C$$

وهي معادلة خط مستقيم مار من المبدأ من الشكل : $y = m \cdot x$

قانون بيير لامبرت ليس خطياً بالمطلق حيث يحدث انحراف موجب أو سالب لذلك نقوم بتحديد الجزء الخطي وإيجاد تركيز العينة المجهولة من خلاله.

معامل الامتصاص الجزيئي ϵ : هو امتصاصية مول واحد من المادة عندما توضع في خلية سماكتها 1cm وواحدته $\text{Liter mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ وذلك عند استخدام المولية للتعبير عن التركيز. وهو يدل معامل الامتصاصية على حساسية الطريقة التحليلية. وهو قرينة كيفية يميز مادة عن أخرى ويتعلق بطبيعة المادة ودرجة الحرارة ولا يتعلق بالتركيز.

حساسية الطريقة: قدرة الطريقة التحليلية على تعيين تراكيز منخفضة جداً من المادة.

أما العلاقة بين الامتصاصية والنفوذية تحسب كما يلي:

$$T = I_t / I_0$$

$$T\% = I_t / I_0 \cdot 100$$

النفوذية المئوية:

$$A = -\log T$$

حيث أن الامتصاصية تعطى بالعلاقة:

جهاز التحليل الطيفي الضوئي في المجالين UV-VIS

هو مقياس طيفي يعمل ضمن المجالين المرئي وفوق البنفسجي ويسمى spectrophotometer و يتألف الجهاز من الأقسام الرئيسية الآتية:
1. المصدر الضوئي: ويختلف تبعاً لنوع الأشعة:

في مجال الـ UV: تعد لمبة الهيدروجين أو لمبة الديتيريوم أو لمبة بخار الزئبق من أكثر المصادر شيوعاً للحصول على هذا النوع من الأشعة.
في مجال VIS,IR: تعتبر لمبة التنغستين من أفضل المصادر للأشعة المرئية والأشعة تحت الحمراء القريبة.

2. موحد طول الموجة (Monochrometer): وظيفة هذا الجزء من

الجهاز فصل الأشعة الساقطة عليه حسب طول موجتها.

3. خلية العينة (Cell): تستخدم الخلايا المصنوعة من الزجاج عند

التحليل في المجال المرئي أما في المجال فوق البنفسجي فتستخدم خلايا

مصنوعة من الكوارتز.



Quartz cuvettes



Disposable cuvettes

4. الكاشف (Detector): يستعمل لقياس كمية الضوء الخارجة من خلية العينة (الساقطة عليه) وعادة يحول الكاشف الشدة الضوئية إلى إشارة تحليلية وهو خلية كهروضوئية.

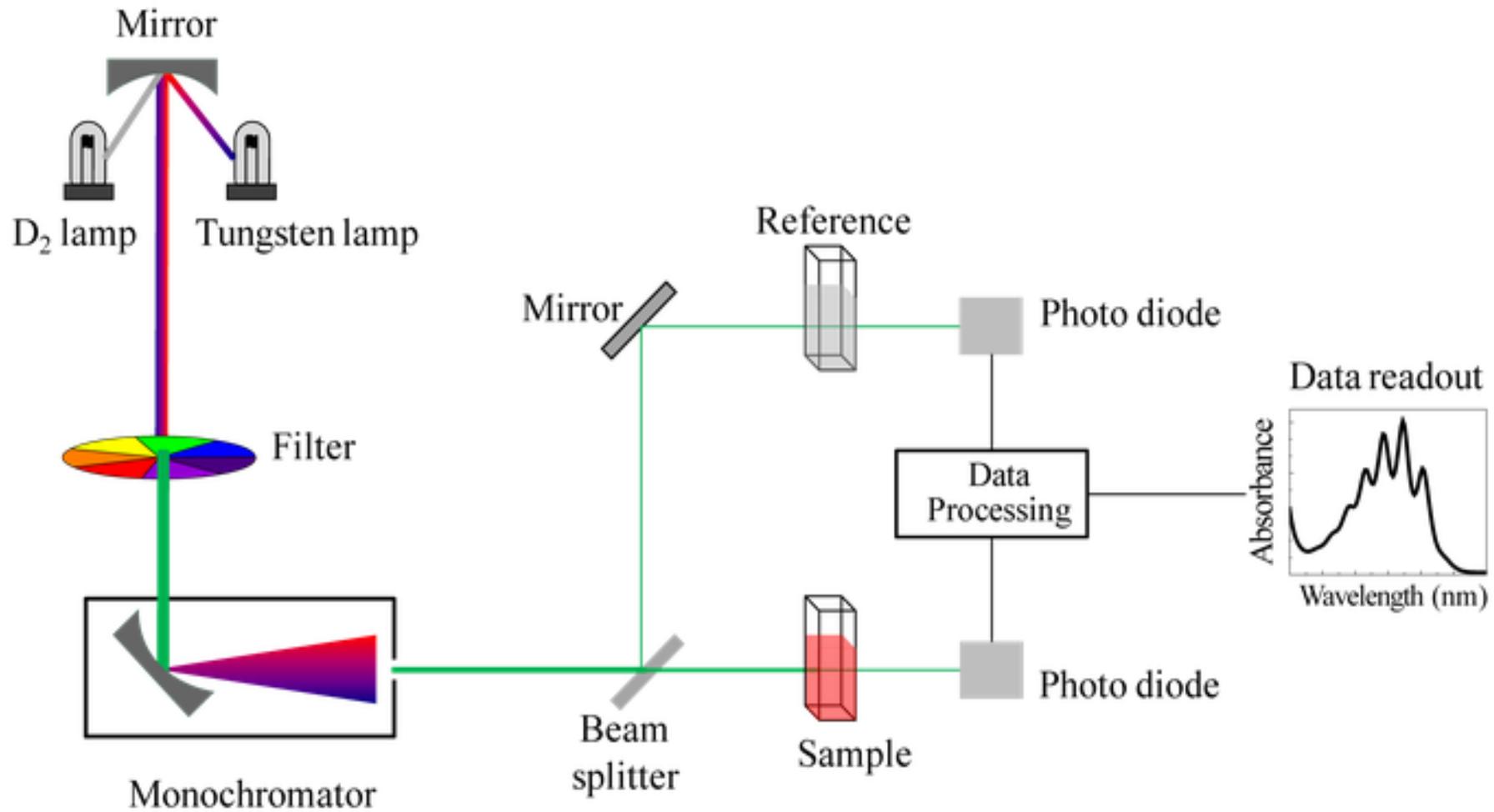
وبشكل عام تكون معظم الأجهزة موصولة بالحاسوب.

هناك نوعان من الأجهزة:

هناك نوعان من الأجهزة:

- جهاز التحليل الطيفي أحادي الحزمة: لقد قل استخدام هذا النوع، لأنه يتطلب إجراء أكثر من ضبط للجهاز بالنسبة لمحلول ال (Blank) أثناء العمل.

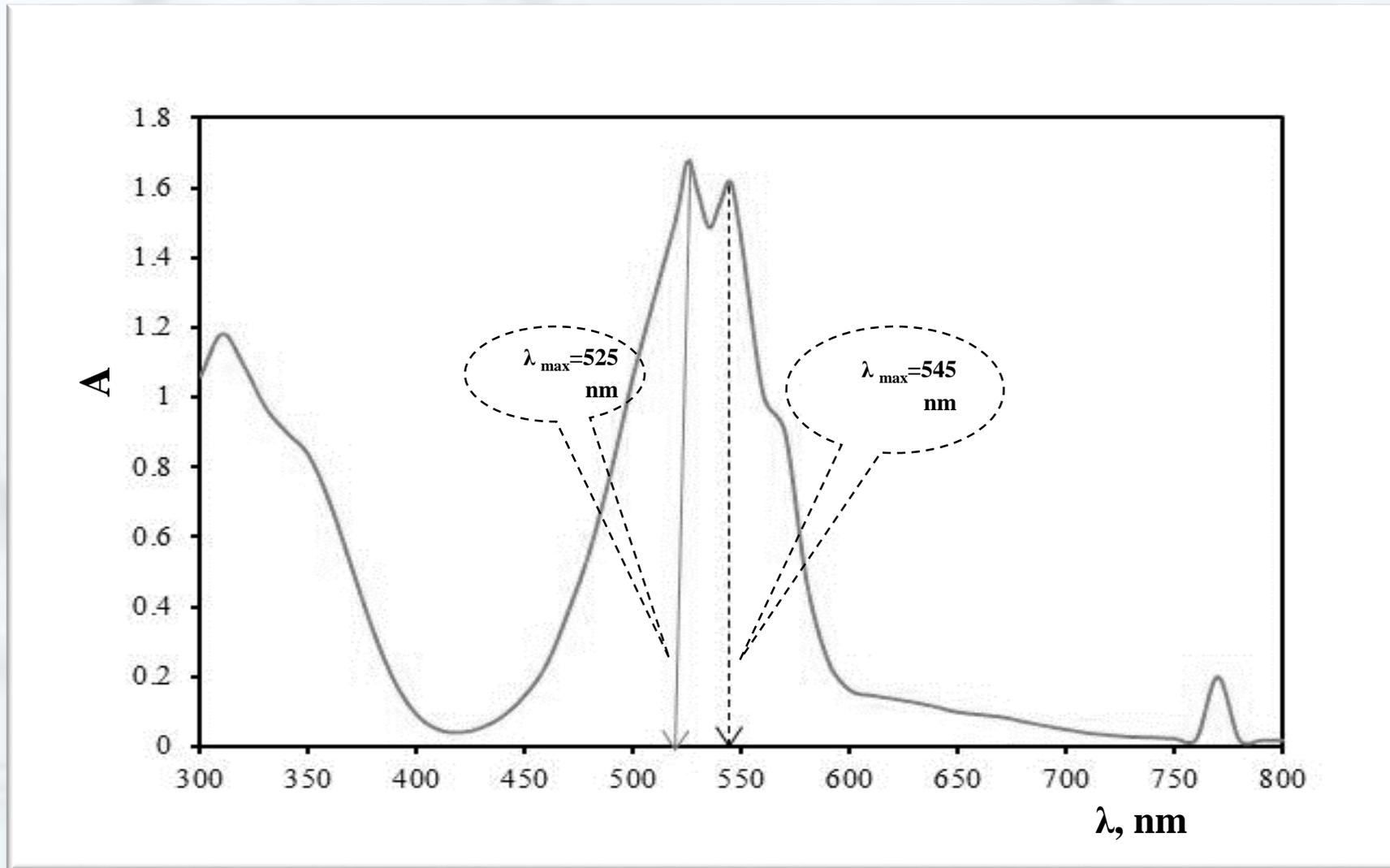
- جهاز التحليل الطيفي ثنائي الحزمة: بهذا النوع توجه الحزمة الضوئية بالتتابع نحو خلية العينة المدروسة ونحو خلية ال Blank، حيث توجد مرآة دوارة.



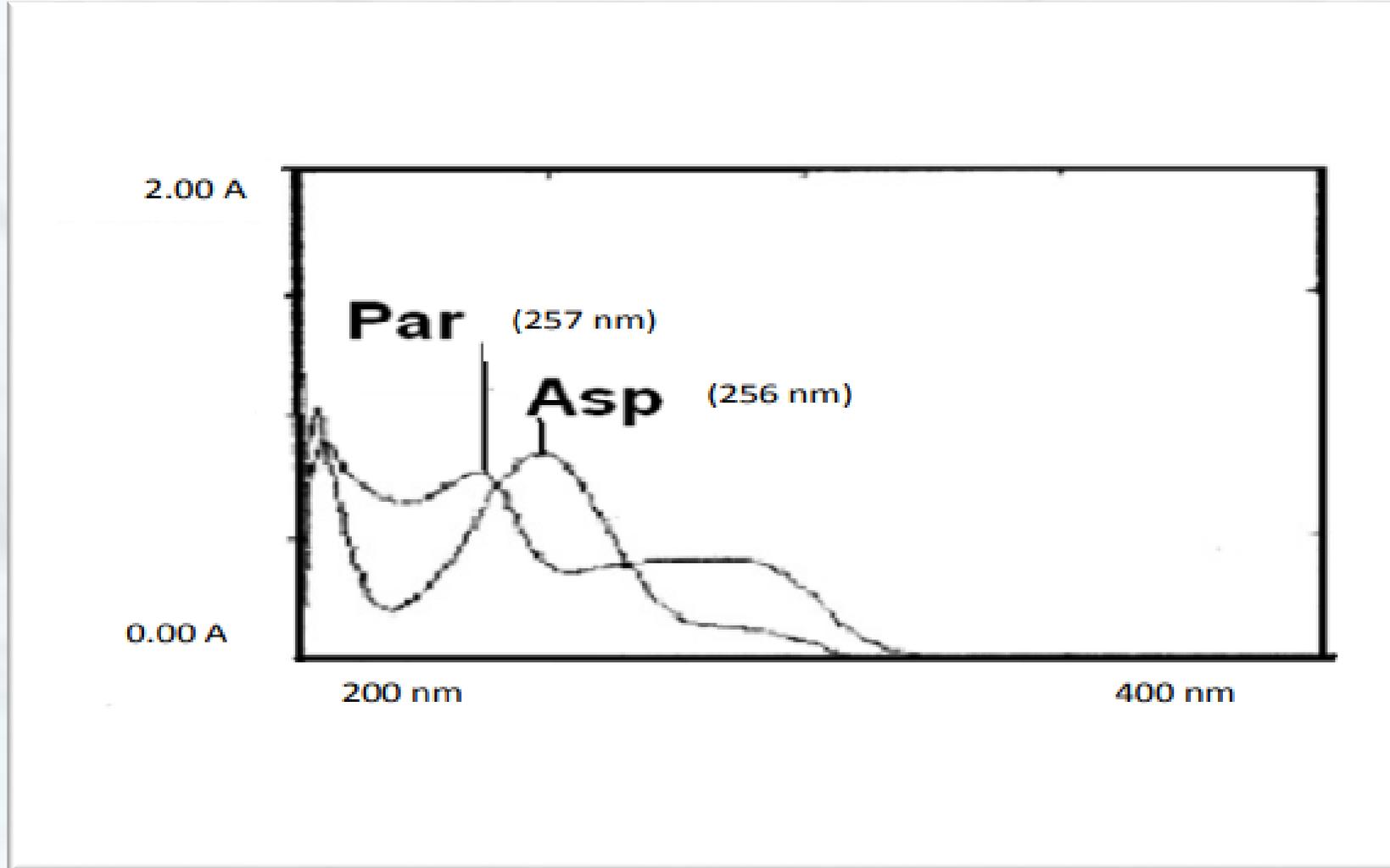
مخطط يوضح أجزاء جهاز التحليل الطيفي الضوئي ثنائي الحزمة

التحديد النوعي :

تحدد المواد المختلفة نوعياً من خلال سحب طيفها ومقارنة عصابات الامتصاص مع أطلس الطيوف للمواد فمثلاً يمتلك برمنغنات البوتاسيوم عصابتي امتصاص عند الموجتان التاليتين: عصابة عظمى عند طول الموجة 525nm تليها عصابة أصغر منها عند 545nm فإذا سحبنا طيف لمادة ما بين 200-800nm ووجدنا أن الطيف يحوي على نفس عصابات الامتصاص وينفس الشكل قلنا أن هناك برمنغنات في المحلول المدروس.



لكن أحياناً لا نستطيع تمييز هوية المادة من خلال الأطلس عندما تكون متداخلة مع مواد أخرى وتكون قيم عصابات الامتصاص قريبة جداً لذلك نلجأ لطرائق طيفية أخرى للتحديد النوعي مثال: التداخل الطيفي بين الاسبرين والسيتامول



تعريف هامة:

- ❖ **المسح الطيفي:** دراسة العلاقة بين الامتصاصية وطول الموجة ضمن المجال (200-800nm) للحصول على طول موجة الامتصاص الأعظمي.
- ❖ **طول الموجة الأعظمي λ_{max} :** هو الطول الموجي الموافق لأعلى قيمة للامتصاص وتكون عندها حساسية الطريقة أعلى ما يمكن.
- ❖ **يتم إجراء المسح الطيفي من الأطوال الأعلى إلى الأطوال الموجية الأقل لأن طاقة الإشعاع تتناسب عكساً مع طول الموجة.** لأن الطاقة العالية يمكن أن تخرب المادة أو تغير في بنيتها.
- ❖ **عند إجراء عملية التحليل في المجال UV (200-400nm) نستخدم خلايا الكوارتز لأنها لا تمتص أشعة UV بينما في عند الدراسة في المجال VIS (400-800nm) يمكن استخدام الخلايا الزجاجية.**

التحليل الكمي:

من أجل التحديد الكمي للمادة المراد تحليلها نقوم بما يلي:

1. نقوم بتحضير المحاليل القياسية (العياري) للمادة المدروسة.
2. نجري المسح الطيفي لتحديد طول موجة الامتصاص الأعظمي.
3. نحضر سلسلة عيارية للمادة المدروسة (طريقة المنحني العياري) وذلك بعد تحديد الشروط المثلى للقياس من طبيعة المذيب، تركيز الكاشف المضاف إن وجد والرقم الهيدروجيني.
4. نحضر العينة أصولاً.

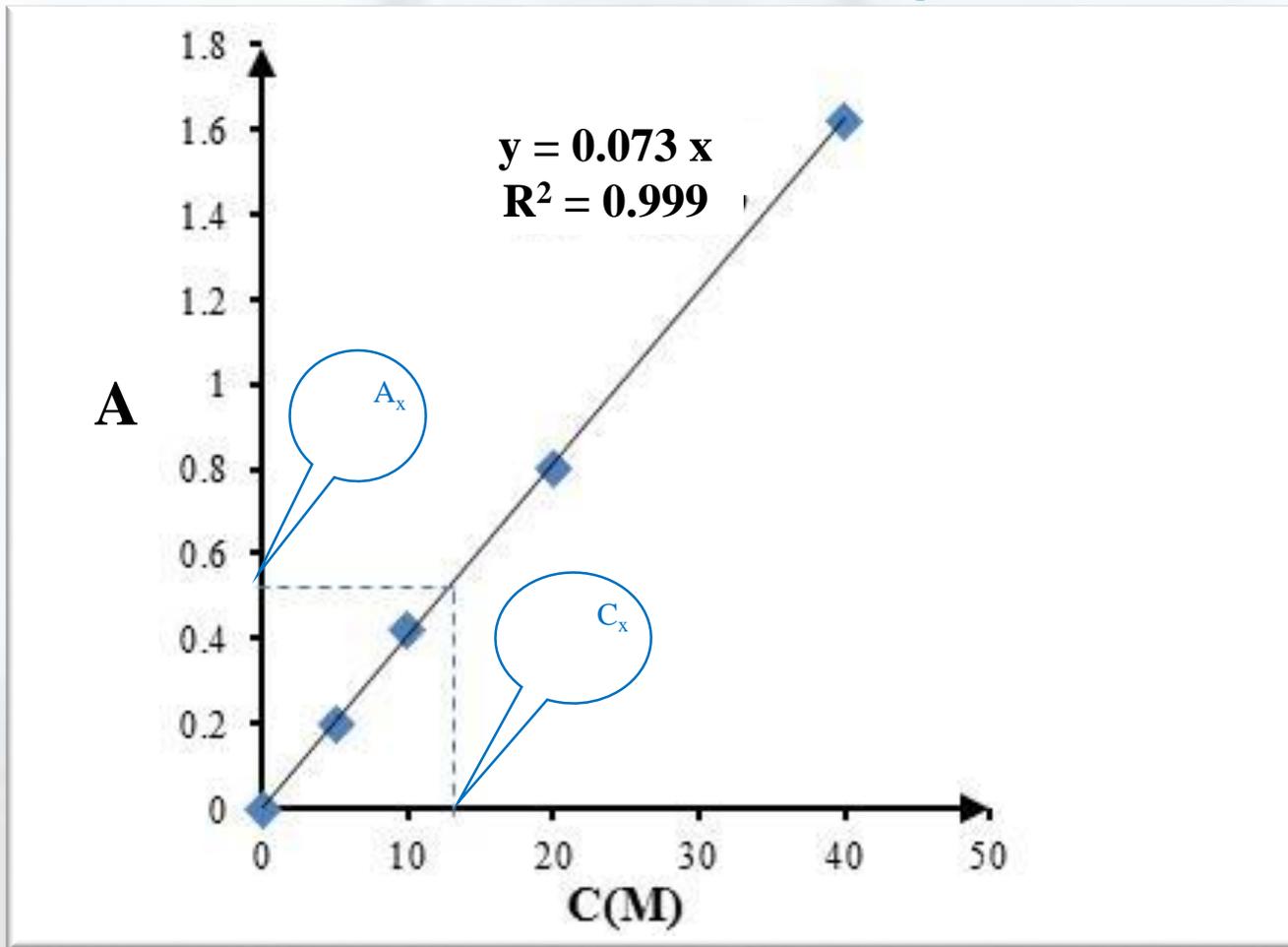
طريقة المحنى العياري:

ولإنشاء منحني المعايرة واستخدامه في معرفة تركيز المادة في عينة مجهولة، يتم تحضير محاليل قياسية، ويراعى أن تكون هذه المحاليل مشابهة تماماً للمحلول المجهول، ويتم أيضاً تحضير المحلول البلاك (Blank) ثم يتم قياس الامتصاص لأحد هذه المحاليل عند أطوال موجية مختلفة، ثم ترسم العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي. ومن الطيف الناتج نستطيع تحديد الموجة التي يحصل عندها أعلى قيمة للامتصاص، ثم نثبت الجهاز على طول هذه الموجة ونقوم بقياس امتصاص كل من المحاليل القياسية المختلفة التراكيز ذلك بعد أن نقوم بتصفير قراءة البلاك ثم نرسم العلاقة بين الامتصاص والتركيـز، وتكون هذه العلاقة خطية إذا ما كانت المحاليل المستخدمة مخففة، ومن هذا المنحني نستطيع تعيين تركيز المادة المجهولة بعد قياس امتصاصها.

السلسلة العيارية: هي عبارة عن محاليل بتركيز مختلفة بالنسبة للمادة المراد تحليلها وتحضر عادة ابتداء من محلول عياري معلوم التركيز يدعى المحلول الأم.

محلول البلائك (الشاهد): يمثل خلفية السلسلة العيارية «خلفية العينة» وهو يحوي كافة المواد المضافة إلى السلسلة العيارية أو العينة عدا المادة المدروسة.

الحسابات المعتمدة للحصول على النتائج التحليلية:



C (mg/l)	A
0.205	5
0.428	10
0.807	20
1.628	40

بعد إيجاد معادلة الخط البياني من السلسلة العيارية نقوم بتحضير العينة ونقيس قيمة الامتصاصية العائدة A_x لها ثم نعوض قيمة A_x في معادلة الخط ونوجد تركيز العينة المجهولة C_x .

تمديد محاليل العينات التحليلية n :

عندما يكون تركيز محلول العينة كبيراً جداً، فإننا نمدد عدداً من المرات، بحيث يصبح مستوى تركيز العينة المعاييرة من مستوى المحلول العياري المعايير به. أي يصبح التركيز محقق للعلاقة الخطية للسلسلة العيائية.

تحسب النتيجة في المحلول الممدد من معادلة الخط البياني

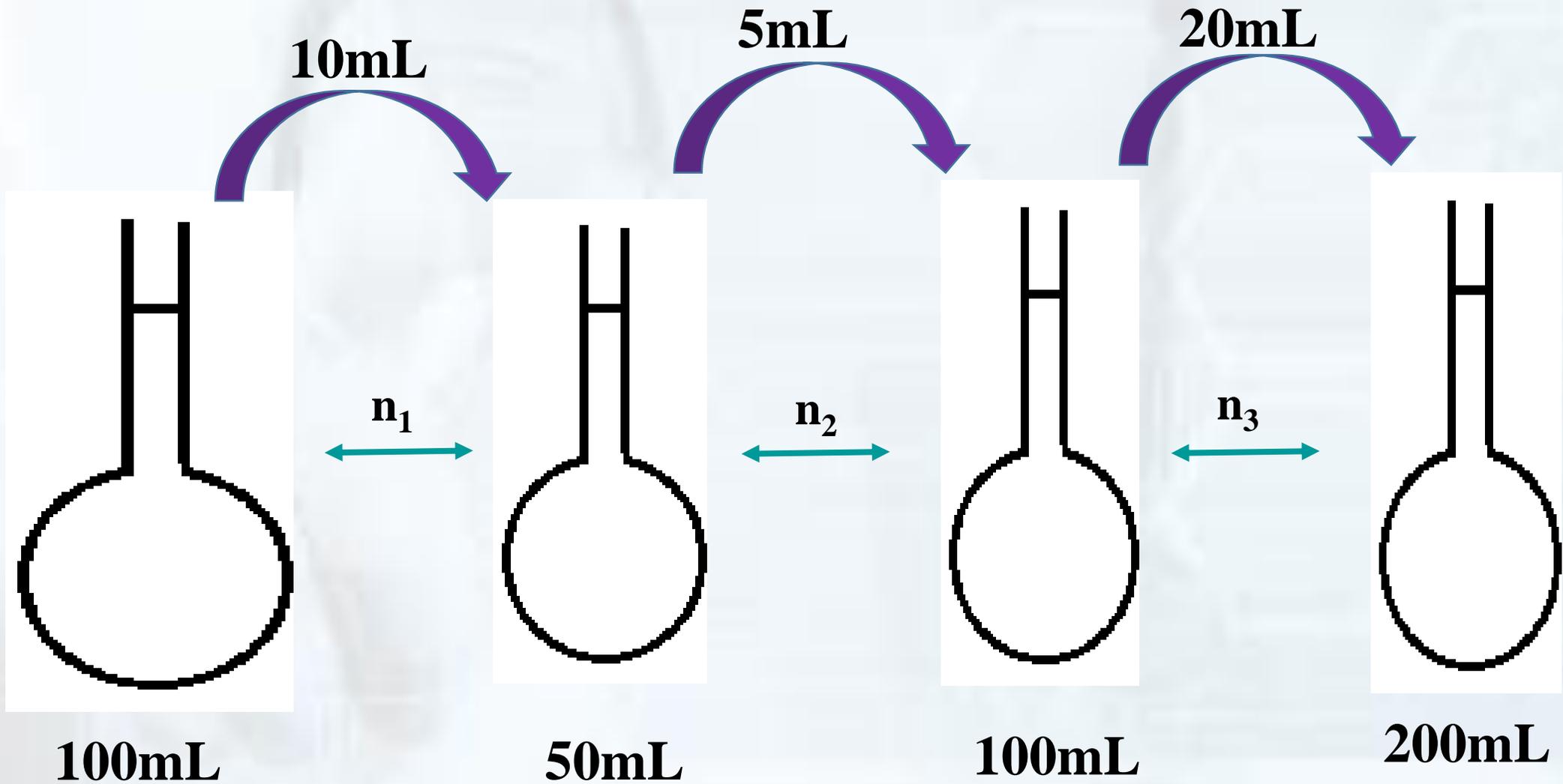
$$C_{x(mg/L)} = \frac{A \pm b}{\bar{m}}$$

$$\text{عدد مرات التمديد} = \frac{\text{الحجم النهائي}}{\text{الحجم المقتطع}}$$

ثم نضرب بعدد مرات التمديد للعودة للعينة الأصلية:

تركيز العينة الأصلية = تركيز العينة الممددة × عدد مرات التمديد.

$$C' = C \times n$$



$$n_1 = \frac{50}{10} = 5$$

$$n_2 = \frac{100}{5} = 20$$

$$n_3 = \frac{200}{20} = 10$$



سلسلة عيارية من برمنغنات البوتاسيوم

تكثيف محاليل العينات التحليلية L :

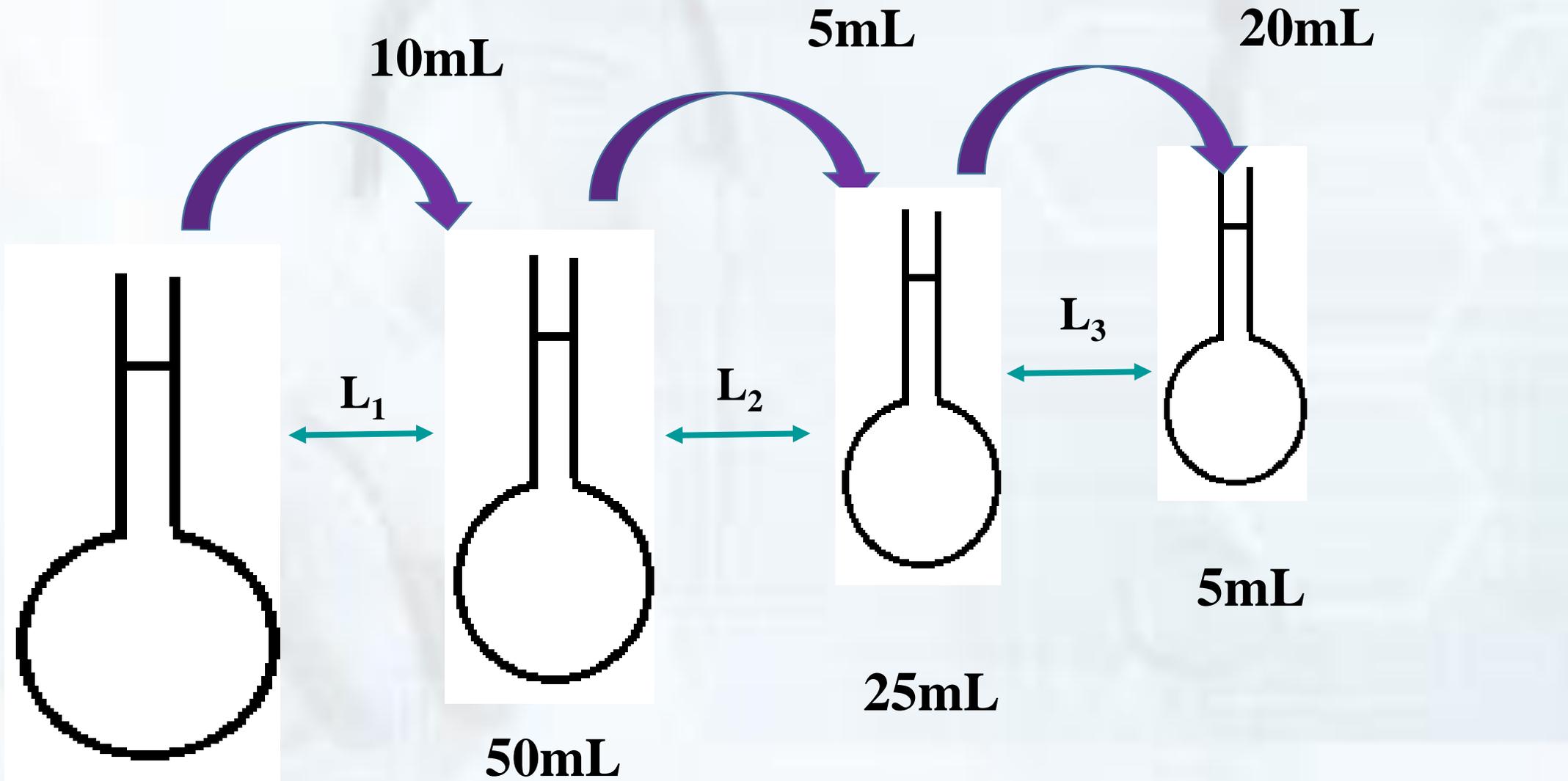
عندما يكون تركيز محلول المعايرة منخفضاً جداً، فإننا نكثف عدداً من المرات، بحيث يصبح مستوى محتوى العنصر المراد تعيينه قابلاً للتعيين.

في هذه الحالة نحسب نتيجة المحلول المكثف

$$\frac{\text{الحجم قبل التكثيف}}{\text{الحجم بعد التكثيف}} = \text{عدد مرات التكثيف}$$

ومن ثم نقسم على عدد مرات التكثيف للعودة إلى محتوى الأصلية.

$$C' = C \times \frac{1}{l}$$



100mL

$$l_1 = \frac{100}{50} = 2$$

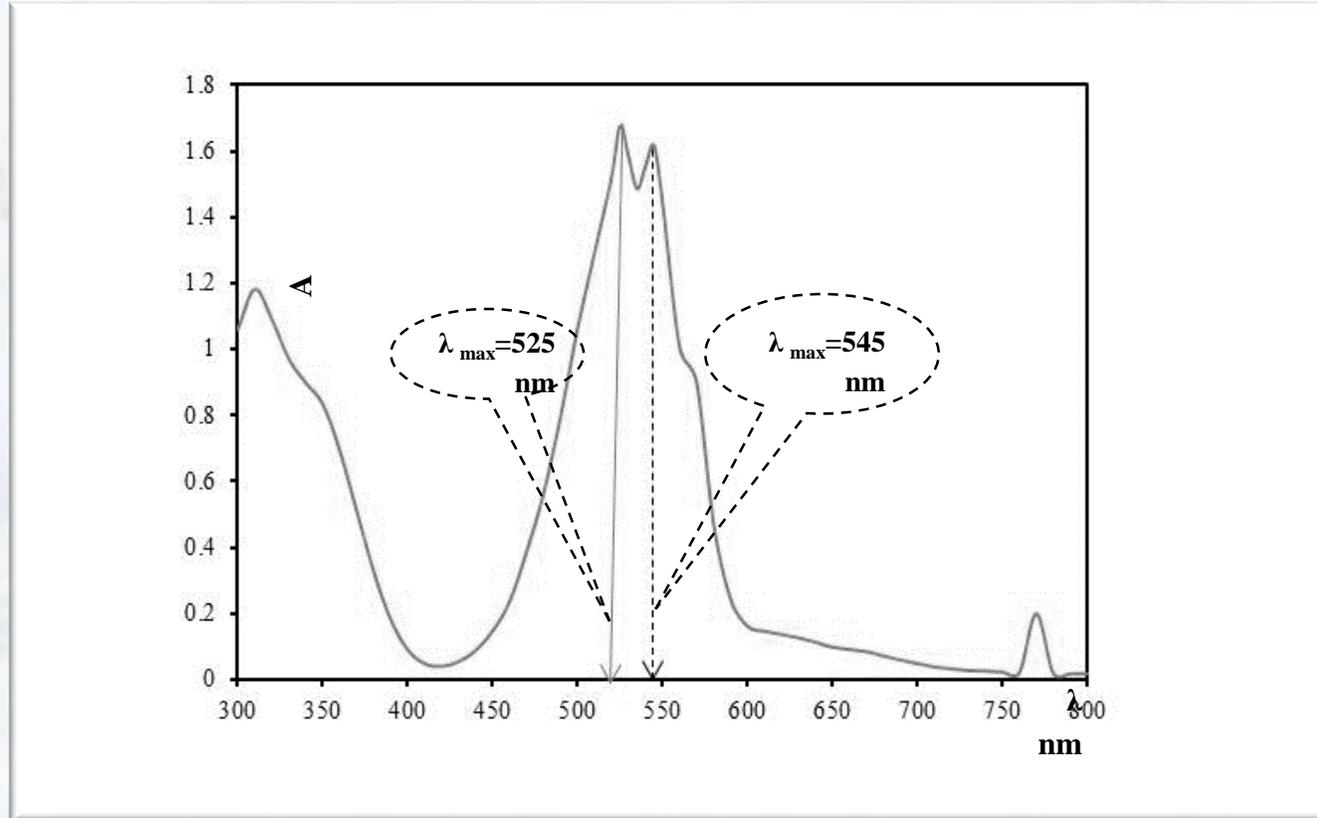
$$l_2 = \frac{50}{25} = 2$$

$$n_3 = \frac{25}{5} = 5$$

تقسم طرائق التحليل بواسطة مطيافية الامتصاص الجزيئي إلى:

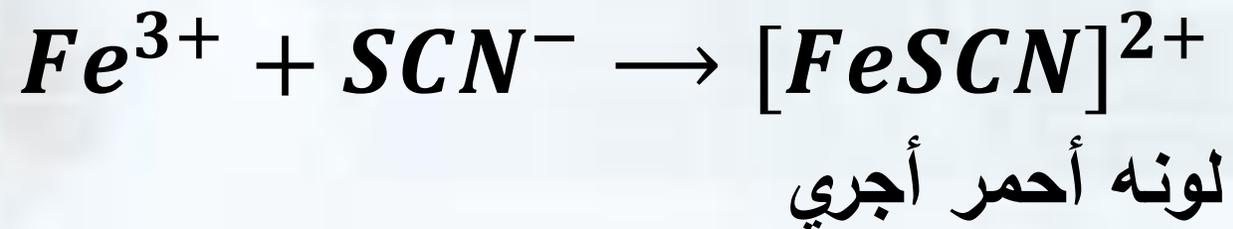
1. الطرائق الطيفية المباشرة: إذا كانت المادة ملونة يمكن أن تمتص في

المجال المرئي مباشرة مثل برمنغنات البوتاسيوم.

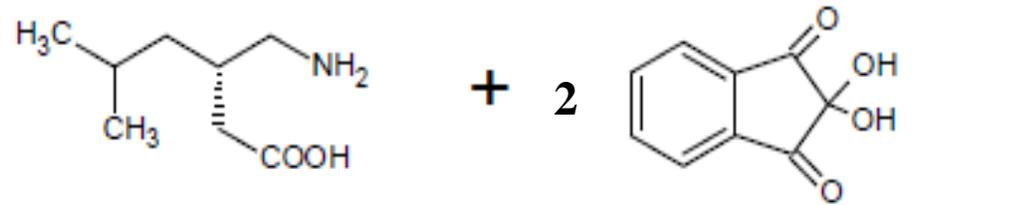


2. طريقة تكوين مركب ماص: إذا كانت المادة المراد تحليلها غير ملونة فقد يضاف إليها مركب يدعى الكاشف الطيفي والذي يكون معها مركب ملون، بحيث يتناسب امتصاص المركب الناتج مع تركيز المادة الأصلية.

مثال 1:

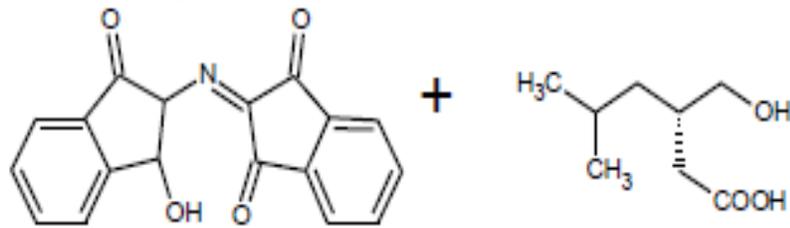


مثال 2: تحديد المادة الدوائية Pregabalin من خلال تفاعلها مع كاشف Ninhydrin حيث يتشكل لدينا Ruhemann's Purple

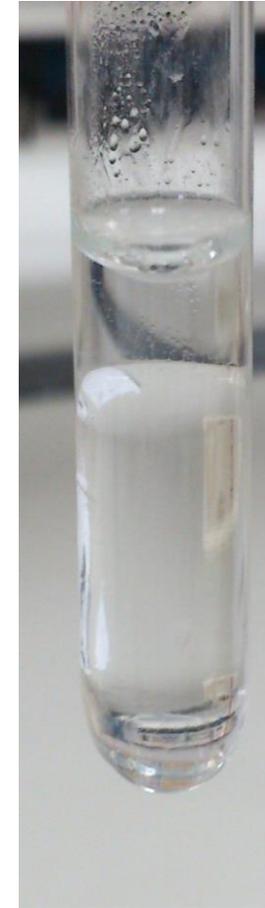


Pregabalin

Ninhydrin



Ruhemann's purple complex



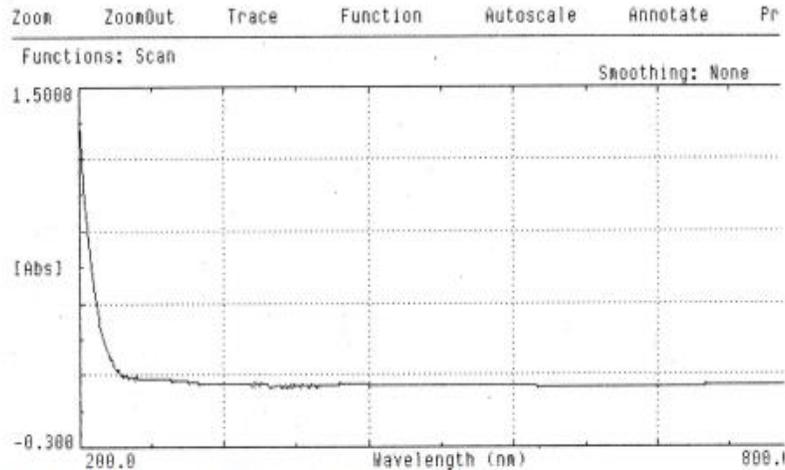
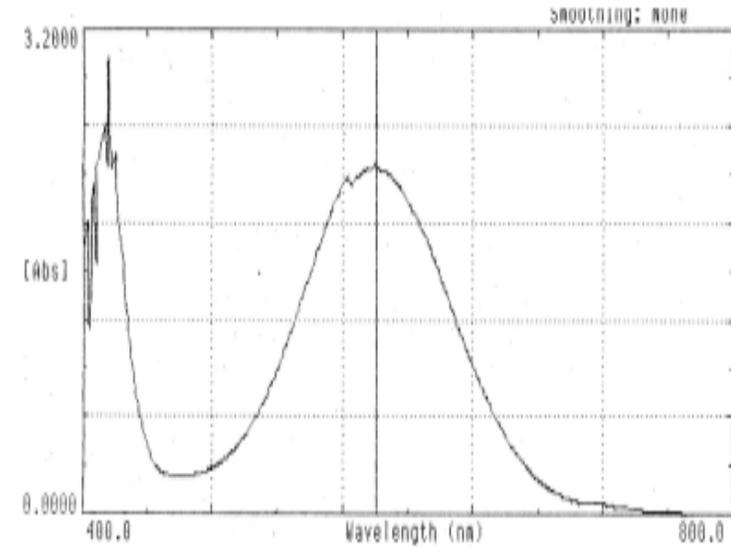
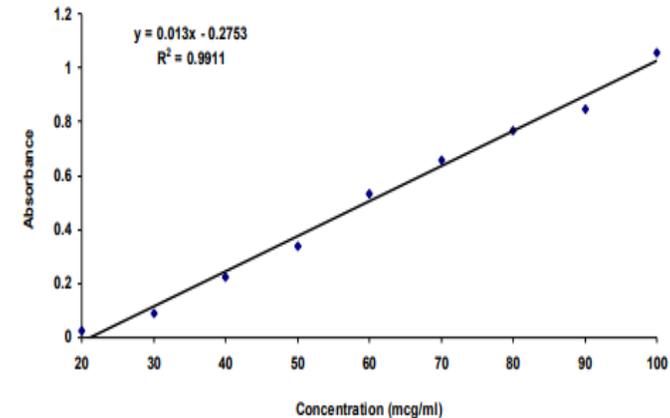


Fig. 1. UV scan spectra of pregabalin in distilled water

UV absorption of pregabalin is in lower range and exhibits λ_{max} at 210 nm and therefore, is less sensitive to UV spectrophotometric methods (Fig. 1). In this study, an



Ruhemann's purple complex



3. طرائق طيفية غير مباشرة: منها تفاعلات الأكسدة والإرجاع:

مثال: تحديد المادة الدوائية

lamivudine من خلال أكسدتها بمادة برمنغنات البوتاسيوم في وسط قلوي من هيدروكسيد الصوديوم

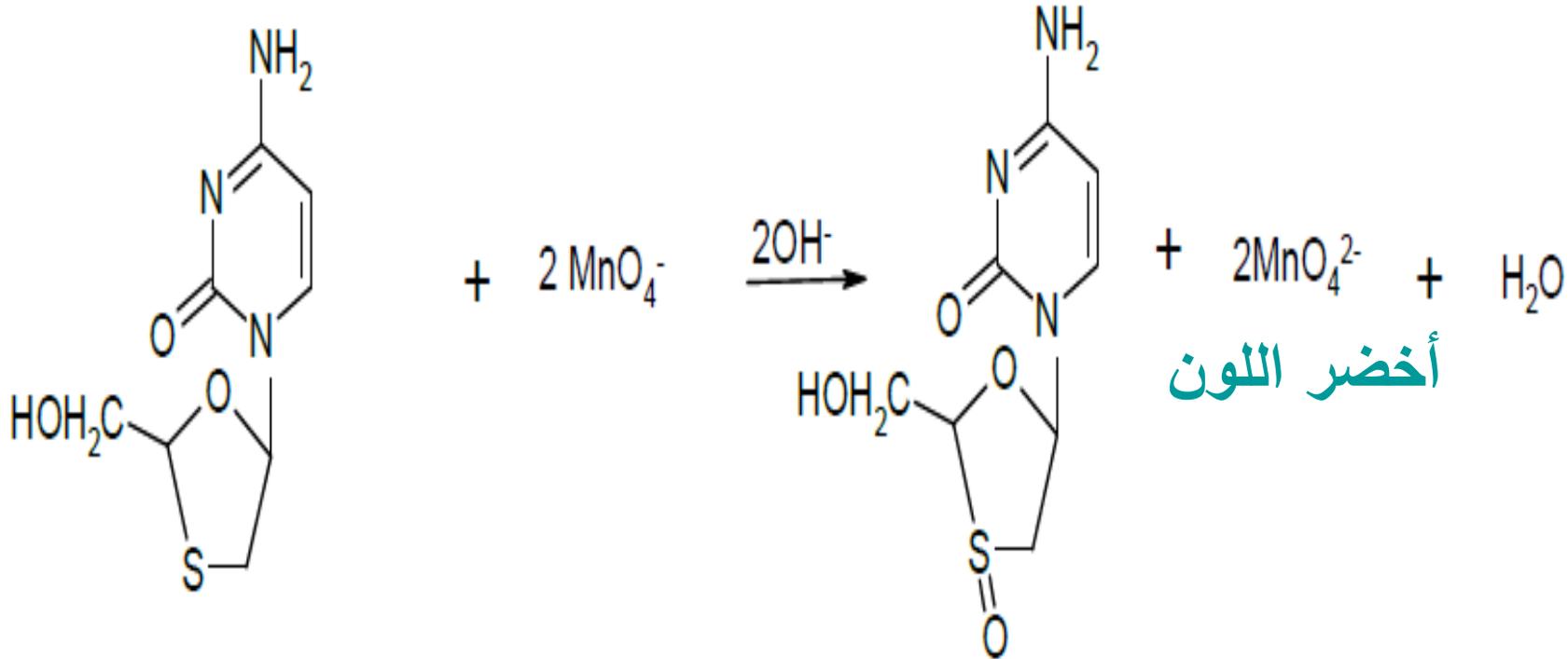
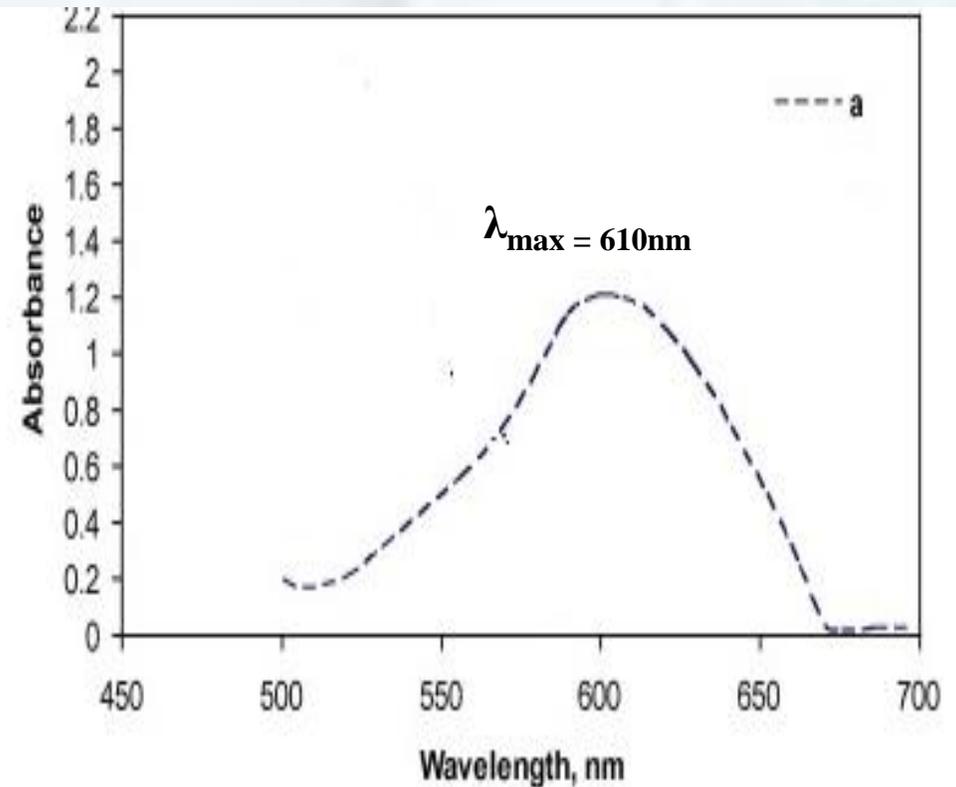
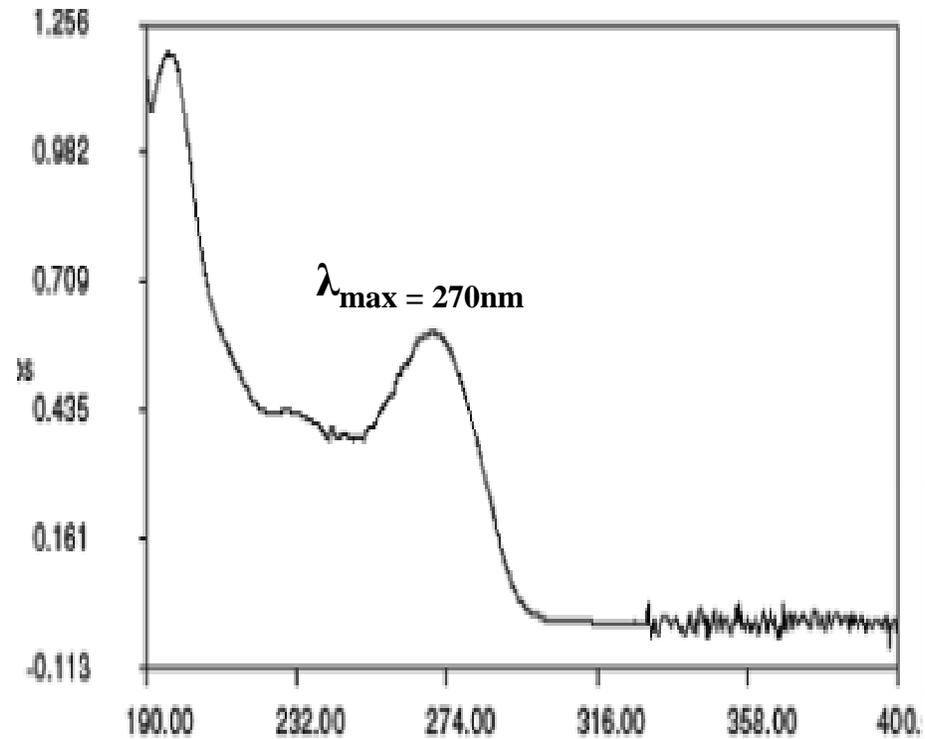


Figure-1: UV Spectrum of Lamivudine in 0.1N HCL



المسح الطيفي لأيونات المنغقات
الخضراء

مسائل:

1- أحسب التواتر بالهرتز لما يأتي:

a- اشعاع X-Ray طول موجته 2.65 \AA .

b- الخط ذي طول الموجة 694.3 nm للإشعاع الياقوتي اللون.

c- عصابة الامتصاص تحت الحمراء عند $19.6 \mu\text{m}$.

الحل:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} = \frac{3.00 \times 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}}{\lambda \text{ cm}} = \frac{3.00 \times 10^{10}}{\lambda} \text{ s}^{-1} (\text{Hz})$$

$$a) \quad \nu = \frac{3.00 \times 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}}{2.65 \text{ \AA} \times \frac{10^{-8} \text{ cm}}{\text{\AA}}} = 1.13 \times 10^{18} \text{ Hz}$$

$$b) \quad \nu = \frac{3.00 \times 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}}{694.3 \text{ nm} \times \frac{10^{-7} \text{ cm}}{\text{nm}}} = 4.32 \times 10^{14} \text{ Hz}$$

$$c) \quad \nu = \frac{3.00 \times 10^{10} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}}{19.6 \mu\text{m} \times \frac{10^{-4} \text{ cm}}{\mu\text{m}}} = 1.53 \times 10^{13} \text{ Hz}$$

الوحدات المستخدمة للتعبير عن طول الموجة:

$$\text{Å}^\circ = \text{أنغستروم} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-8} \text{ cm} = 10^{-4} \mu\text{m}$$

$$\text{nm} = \text{نانو متر} = 10^{-9} \text{ m} = 10 \text{ Å}^\circ = 10^{-3} \mu\text{m}$$

$$\mu\text{m} = \text{ميكرومتر} = 10^{-6} \text{ m} = 10^4 \text{ Å}^\circ$$

2- عند طول موجة الامتصاص الأعظمي ($\lambda_{max} = 580nm$) للمعقد $Fe(SCN)^{2+}$ ، تبلغ

قيمة معامل الامتصاص الجزيئي $7.00 \times 10^3 L.cm^{-1}.mol^{-1}$. أحسب:

1- أحسب امتصاصية محلول للمعقد تركيزه $3.40 \times 10^{-5} M$ عند λ_{max} في خلية $1cm$.

2- امتصاصية محلول تركيزه ضعف التركيز في الطلب الأول.

3- نفوذية المحلولين السابقين.

4- امتصاصية محلول نفوذيته تساوي نصف نفوذية المحلول الموصوف في الطلب الأول.

الحل:

$$1) A = \epsilon lc = 7.00 \times 10^3 L.cm^{-1}.mol^{-1} \times 1cm \times 3.40 \times 10^{-5} M = 0.238$$

$$2) A = \epsilon lc = 7.00 \times 10^3 \times 1 \times 2 \times 3.40 \times 10^{-5} = 0.476$$

$$3) T = 10^{-A}$$

$$T_1 = 10^{-0.238} = 0.578$$

$$T_2 = 10^{-0.476} = 0.334$$

$$4) A = -\log T = -\log(0.578/2) = 0.539$$