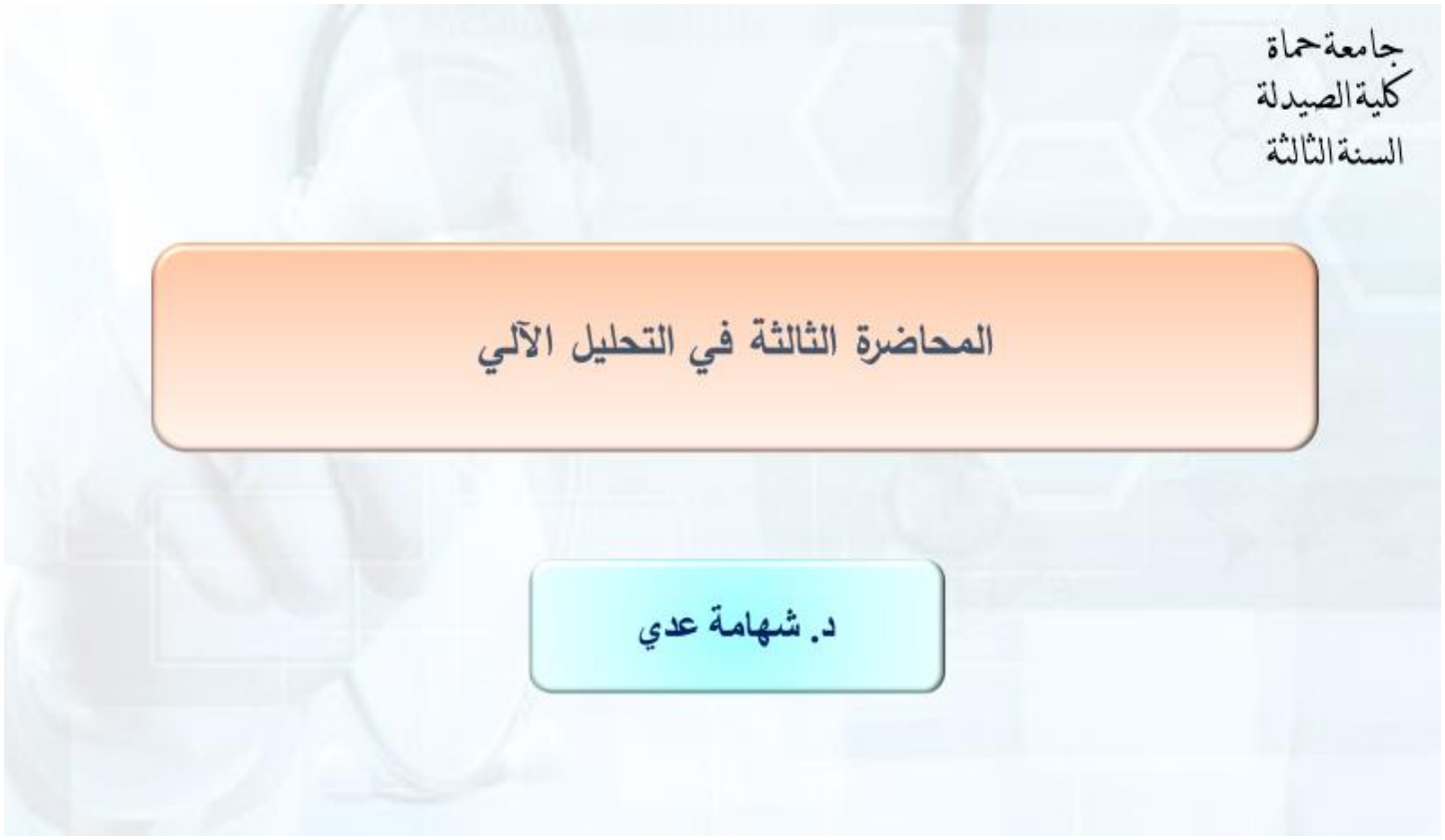

جامعة حماة
كلية الصيدلة
السنة الثالثة
المحاضرة الثالثة في التحليل الآلي
د. شهامة عدي

حاملات اللون chromophore: يطلق على المجموعة الوظيفية المسؤولة عن الامتصاص في الجزيء اسم كرموفور أي (هي التي تعطي اللون للمركب بسبب امتصاصها للأشعة المرئية أو ما فوق البنفسجية). وهي المجموعات الحاوية على الكترونات π و n.

عصابات الامتصاص الالكترونية من أجل كروموفورات نموذجية:

Chromophores: examples

Chromophore	Example	Excitation	λ_{max}, nm	ε	Solvent
C=C	Ethene	Π —> Π*	171	15,000	hexane
C≡C	1-Hexyne	Π —> Π*	180	10,000	hexane
C=O	Ethanal	n —> Π* Π —> Π*	290 180	15 10,000	hexane hexane
N=O	Nitromethane	n —> Π* Π —> Π*	275 200	17 5,000	ethanol ethanol
C-X; X=Br X=I	Methyl bromide Methyl Iodide	n —> σ* n —> σ*	205 255	200 360	hexane hexane

59

UV Spectroscopy: Chromophores

$n \rightarrow \pi^*$ and $\pi \rightarrow \pi^*$ Transitions

Most UV/vis spectra involve these transitions.

$\pi \rightarrow \pi^*$ are generally **more intense** than $n \rightarrow \pi^*$

	λ_{max}	ε_{max}	type
$C_6H_{13}CH=CH_2$	177	13000	$\pi \rightarrow \pi^*$
$C_5H_{11}C\equiv C-CH_3$	178	10000	$\pi \rightarrow \pi^*$
CH_3CCH_3 (O)	186	1000	$n \rightarrow \sigma^*$
CH_3COH (O)	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
CH_3NO_2	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
$CH_3N=NCH_3$	339	5	$n \rightarrow \pi^*$

UV Spectroscopy: Substituent Effects

Conjugation – most efficient means of bringing about a bathochromic and hyperchromic shift of an unsaturated chromophore:

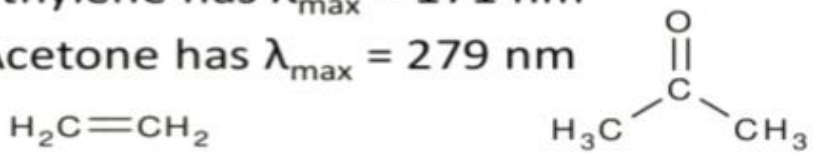
	λ_{max} nm	ε
$H_2C=CH_2$	175	15,000
	217	21,000
	258	35,000
β-carotene	465	125,000
	$n \rightarrow \pi^*$ 280 $\pi \rightarrow \pi^*$ 189	12 900
	$n \rightarrow \pi^*$ 280 $\pi \rightarrow \pi^*$ 213	27 7,100

Chromophore

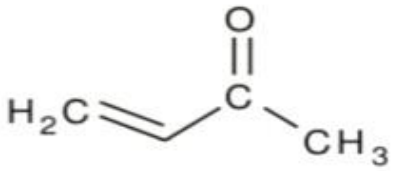
3. Conjugation of C=C and carbonyl group shifts the λ_{max} of both groups to longer wavelength.

e.g. Ethylene has λ_{max} = 171 nm

Acetone has λ_{max} = 279 nm

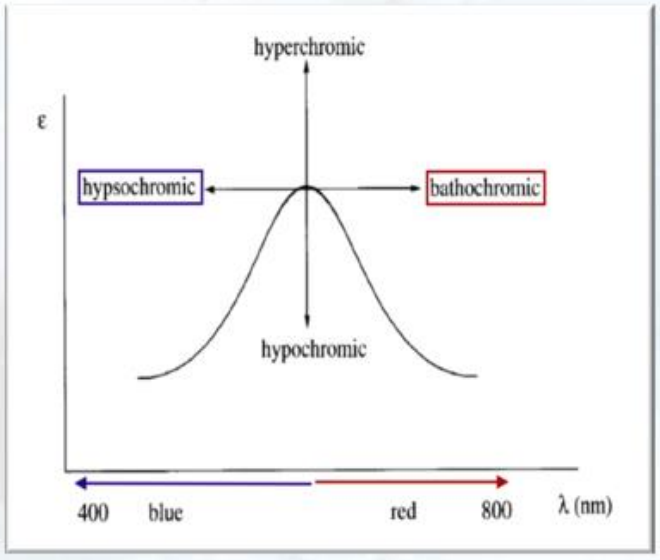


Crotonaldehyde has λ_{max} = 290 nm



الأوكسوكروم (معززات اللون) auxochrome: يطلق اسم مجموعة أوكسوكرومية على مجموعة مشبعة تحتوي ذرة مغايرة ذات ثنائية الكترونية حرة (الكترونات n) مثل مجموعات الهيدروكسي والأمين والهالوجينات. وهي لا تمتص الأشعة في المجال المرئي وما فوق البنفسجي إذا وجدت بمفردها في الجزيء لكنها تزيد من امتصاص حاملات اللون أو تغير من طول موجة الامتصاص.

يؤدي ارتباط مجموعة أوكسوكرومية بكروموفور إلى إزاحة امتصاصات الكروموفور حسب لفعلين التاليين:

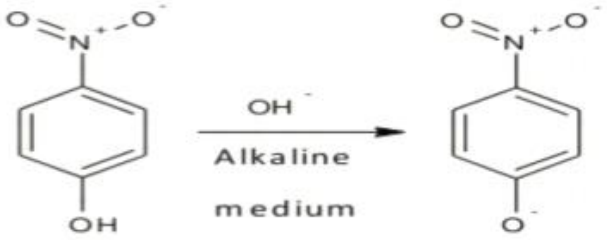


الفعل الباثو كرومي

bathochromic shift هو الفعل الذي يؤدي إلى انزياح العصابة المميزة لحامل اللون نحو الأطوال الموجية الأطول (نحو الأحمر) ويرافقه زيادة في شدة الامتصاص.

1 • Bathochromic Shift (Red Shift)

- In alkaline medium, p-nitrophenol shows red shift. Because negatively charged oxygen delocalizes more effectively than the unshared pair of electron.

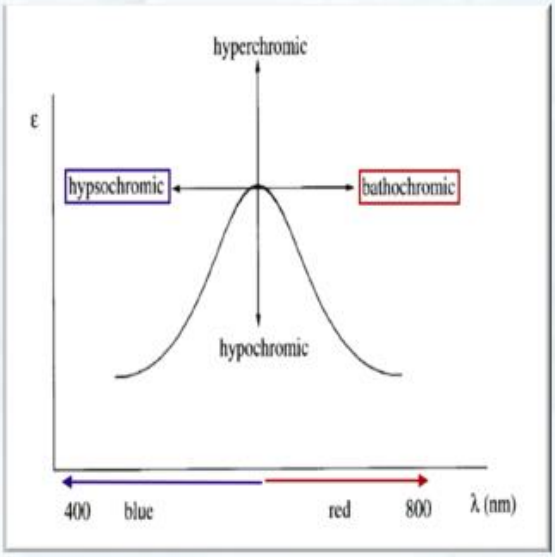


p-nitrophenol

λ_{max} = 255 nm λ_{max} = 265 nm

يؤدي ارتباط مجموعة أوكسوكرومية بكروموفور إلى إزاحة امتصاصات الكروموفور حسب لفعلين التاليين:

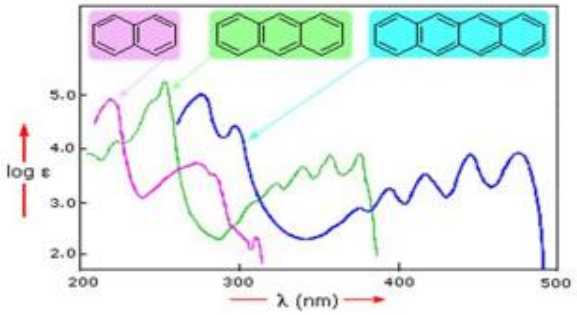
الفعل الهيبثو كرومي
hypsochromic shift
هو الفعل الذي يؤدي إلى انزياح العصابة المميزة لحامل اللون نحو الأطوال الموجية الأقصر (نحو الأزرق) ويرافقه زيادة في شدة الامتصاص.



Changes in Absorption spectrum

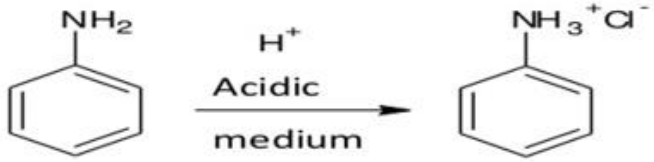
Example 1): effect of conjugation on absorption spectrum

Increase in conjugation, increase absorbance of light to higher λ, bathochromic shift with hyperchromic effect



2 • Hypsochromic Shift (Blue Shift)

- Aniline shows blue shift in acidic medium, it loses conjugation.

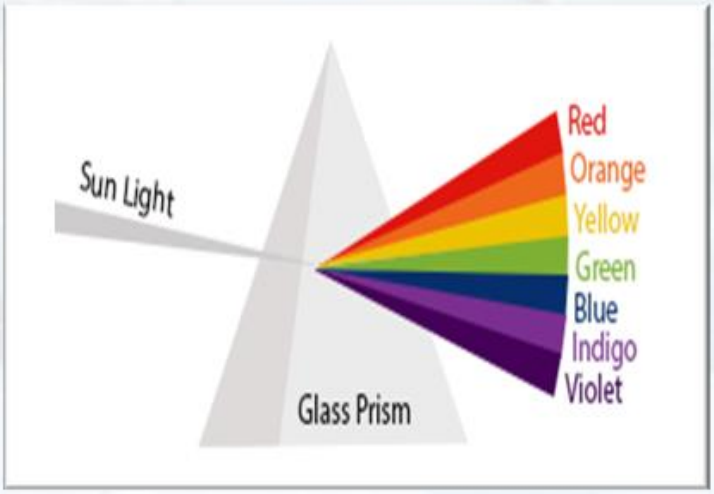


Aniline

λ_{max} = 280 nm λ_{max} = 265 nm

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 الالكترونات الرابطة لجزيئات وأيونات المادة الماصة للضوء

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



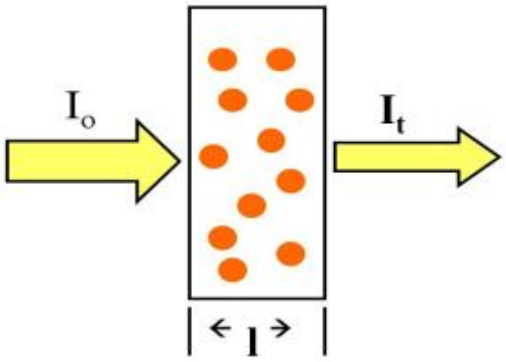
المدى التقريبي لأطوال موجات ألوان الضوء المرئي

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

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 جزئيات المادة والجزء الآخر سوف ينفذ وشدة الأشعة النافذة I_t أقل دوماً من شدة الأشعة الواردة I_o وترتبط الأشعة النافذة بالأشعة الواردة بالعلاقة التالية:

Beer-Lambert Law

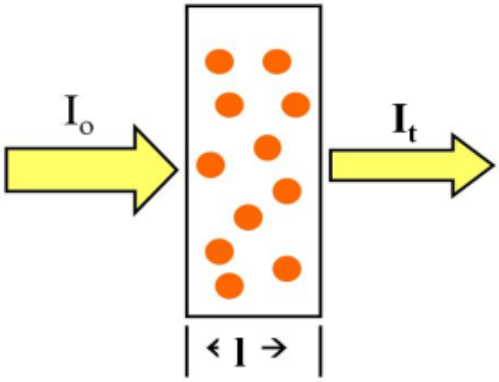


$$I_t = I_o 10^{-\varepsilon l c}$$

I = light intensity
ε = extinction coefficient
l = thickness
c = concentration
I_o = Original intensity

$$\text{Absorption (A)} = \log (I_o/I_t) = \varepsilon l c$$

Beer-Lambert Law



$$I_t = I_o \cdot 10^{-\varepsilon . l . C}$$
$$\log (I_t) = \log (I_o) - \varepsilon . l . C$$
$$\log (I_o) - \log (I_t) = \varepsilon . l . C$$
$$\log (I_o/I_t) = \varepsilon . l . C$$
$$(A) = \varepsilon . l . C$$

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

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 $Liter\ mol^{-1}\ cm^{-1}$ وذلك عند استخدام المولية للتعبير عن التركيز.

ويدل 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:

$$T = I_t/I_o$$

النفوذية المئوية: $T\% = I_t/I_o \cdot 100$

حيث أن الامتصاصية تعطى بالعلاقة: $A = -\log T$

جهاز التحليل الطيفي الضوئي في المجالين UV-VIS

هو مقياس طيفي يعمل ضمن المجالين المرئي وفوق البنفسجي ويسمى spectrophotometer و يتألف الجهاز من الاقسام 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 الاشعة 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.

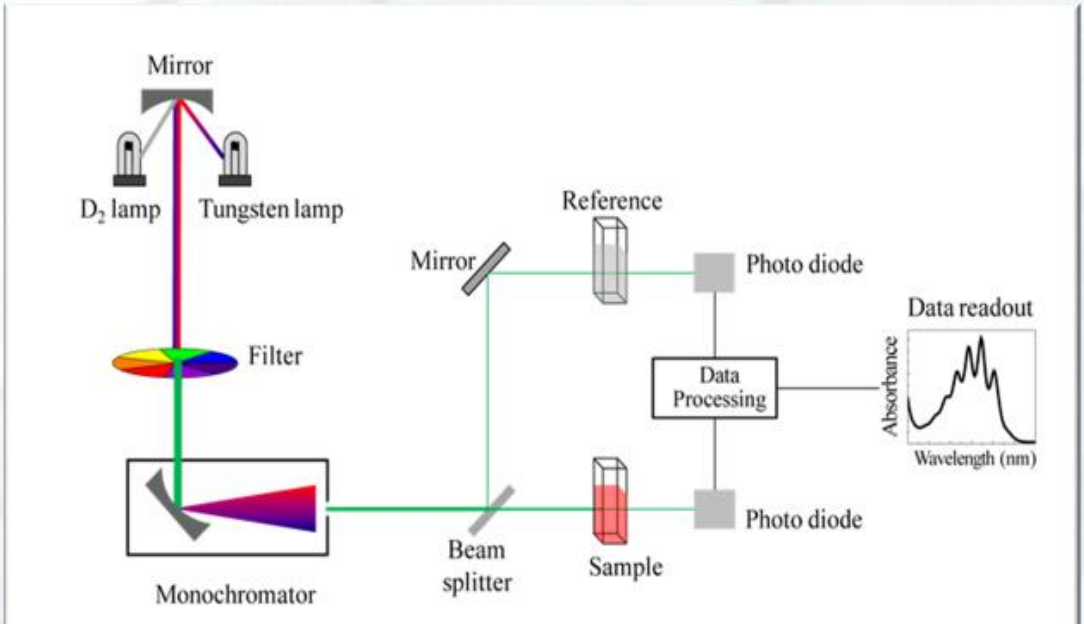
4. الكاشف (Detector): يستعمل لقياس كمية الضوء الخارجة من خلية العينة(الساقطة عليه) وعادة يحول الكاشف الشدة الضوئية إلى إشارة تحليلية وهو خلية كهرضوئية.

وبشكل عام تكون معظم الأجهزة موصولة بالحاسوب.

هناك نوعان من الأجهزة:

هناك نوعان من الأجهزة:

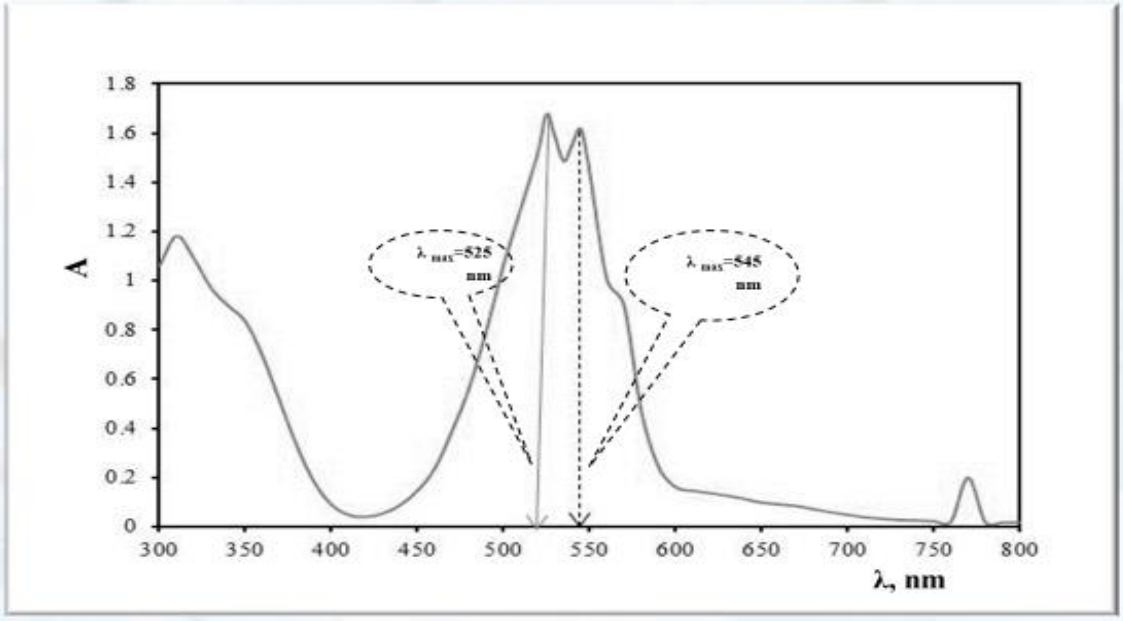
- جهاز التحليل الطيفي أحادي الحزمة: لقد قل استخدام هذا النوع، لأنه يتطلب إجراء أكثر من ضبط للجهاز بالنسبة لمحلول ال (Blank) أثناء العمل.
- جهاز التحليل الطيفي ثنائي الحزمة: بهذا النوع توجه الحزمة الضوئية بالتتابع نحو خلية العينة المدروسة ونحو خلية الBlank، حيث توجد مرآة دوّارة.



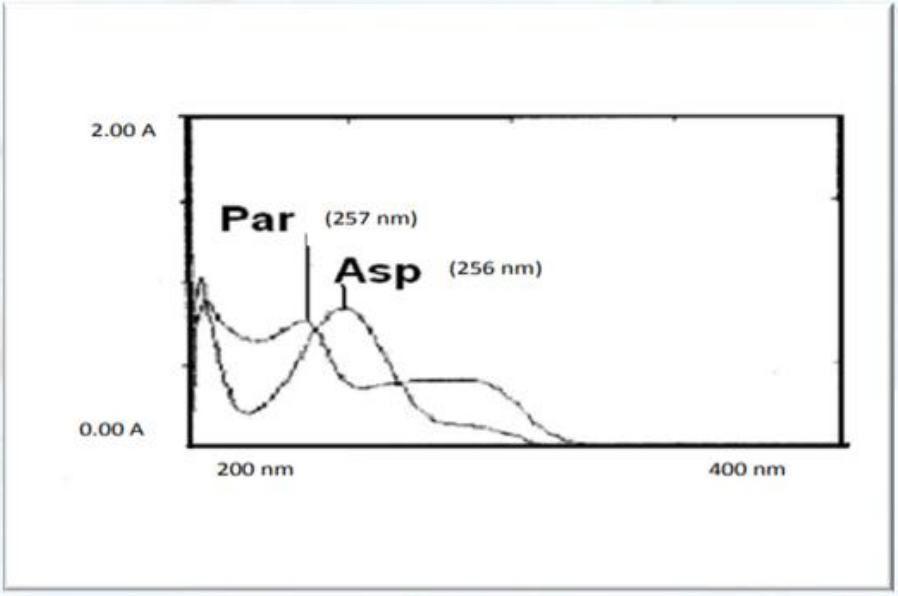
مخطط يوضح أجزاء جهاز التحليل الطيفي الضوئي ثنائي الحزمة

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 وبنفس 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



تعاريف 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.

❖ نستفيد من المسح الطيفي في التعرف على طيف المادة جيداً وتحديد كافة العصابات الطيفية عليه لأن هذا الطيف بمثابة بصمة الأصبع للمادة المدروسة فلكل مادة طيف خاص بها، واختيار الأكثر شدة والأقل تعقيد منها للأغراض التحليلية.

❖ اذا كانت المادة ملونة فهذا يعني قطعاً أنها تمتص الإشعاع الكهرطيسي في المجال المرئي إلا أن ذلك لا يعني أنها لا تمتص الإشعاع في مجال فوق البنفسجي حيث أن بعض المواد الملونة يكون لها أيضاً عصابة امتصاص في المجال فوق البنفسجي، واذا كانت المادة شفافة فقطعاً ليس لها عصابة امتصاص في المجال المرئي لكن يمكن أن تمتص في مجال UV ويكون لها عصابة ويمكن أن لا تمتص.

التحليل الكمي:

من أجل التحديد الكمي للمادة المراد تحليلها نقوم بما يلي:

1. نقوم بتحضير المحاليل القياسية (العياري) للمادة المدوسة.
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 المحني العياري:

ولإنشاء منحنى 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 البلانك (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 البلانك

ثم نرسم العلاقة بين الامتصاص والتركيز، وتكون هذه العلاقة خطية إذا ما كانت المحاليل المستخدمة مخففة، ومن هذا المنحنى نستطيع تعيين تركيز المادة المجهولة بعد قياس امتصاصها.

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

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