

تطبيقات:

1- احسب امتصاص محلول نفاذه المئوي % 89 T عند طول الموجة 499 nm .

$$\text{النفاذ المئوي} = \text{النفاذ} \times 100$$

$$\text{النفاذ} = \text{النفاذ المئوي} / 100$$

$$100 / 89 =$$

$$0.89 =$$

$$A = - \log T = - \log 0.89 = 0.0506$$

2- إذا كان نفاذ محلول 90% عند طول موجة 310 nm . فما هو الامتصاص عند طول الموجة نفسها؟

$$\text{النفاذ} = 100 / 90 = 0.9$$

$$A = - \log 0.9 = 0.0457$$

التحليل الكمي:

عند إجراء التحاليل الكمية باستخدام لطريقة الطيفية uv أو المجال المرئي لا بد لنا من تثبيت كافة الشروط التالية للعينة و للمحلول العياري على حدٍ سواء.

1- عدم التبديل بالمحلات .

2- ثبات درجة الحرارة.

3- ثبات ال pH.

4- ثبات زمن التفاعل.

5- تثبيت العوامل الأخرى الضرورية لتحضير العينة والتي يمكن أن تغير تركيب المعقد ومكان امتصاصه وكيفيته.

6- يجب أن تكون كافة الشروط الجهازية واحدة سواء بالنسبة للعياري أو للعينة المجهولة التركيز .

7- يجب قراءة الامتصاص عند طول موجة الامتصاص الأعظمي λ_{\max} لأننا نحصل على:

- أعلى استجابة وأفضل حساسية ممكنة للطريقة .

- أقل حدود كشف ممكنة .

- تخفيف الأخطاء في المعايرة إلى حدها الأدنى كلما ابتعدنا عن λ_{\max} ازداد الخطأ.

- القياسات ضمن مجال النفاذ 20 – 80 % لتحقيق خطية العلاقة بين الامتصاص والتركيز.

يوجد طريقتان للتحليل الكمي :

- التحليل الكمي باستخدام مادة عيارية.
- التحليل الكمي بغياب مادة عيارية.

أولا . التحليل الكمي بوجود مادة عيارية :

امتصاصية تركيز مجهول من مادة معينة عند طول موجة الامتصاص الأعظمي:

$$A_x = \epsilon \cdot b \cdot C_x$$

امتصاصية تركيز عياري من نفس المادة وعند نفس طول الموجة :

$$A_s = \epsilon \cdot b \cdot C_s$$

بما أن المادة واحدة وطول الموجة واحد ← ϵ يكون له نفس القيمة في الامتصاصين السابقين، $b = 1 \text{ cm}$.

بنسب العلاقتين السابقين لبعضهما سنحص على العلاقة التالية :

$$A_s / A_x = C_s / C_x$$

يستخدم هذا القانون فقط في حالة توافر مادة عيارية نقية من المادة المراد معايرتها. ويكون ذلك قابل للتطبيق في حالة معايرة العوامل الحيوية بالجسم كالغلوكوز والكوليسترول تتوافر موادها العيارية بشكل نقي ورخيص الثمن . عكس المواد الدوائية ، فالمواد العيارية منها تكون غالية الثمن جدا .

مثال تطبيقي:

عند معايرة غلوكوز المصل لمريض تبين أن قيمة امتصاص عينته تساوي 0.85 عند طول موجة 500nm وامتصاص عينة عياري خضعت لنفس المعاملة 0.36 . فإذا علمت أن تركيز الحلول العياري 100 mg/dL فما هو تركيز الغلوكوز ؟

$$A_s / A_x = C_s / C_x$$

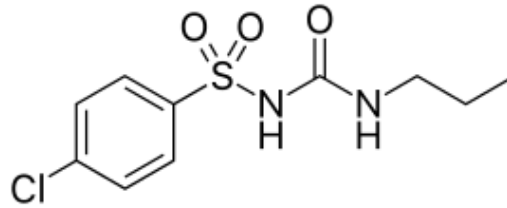
$$0.36 / 0.85 = 100 / C_x \rightarrow C_x = 236 \text{ mg/dL}$$

ثانياً. التحليل الكمي بغياب المادة العيارية:

في معظم الأحيان عندما نريد إجراء معايرات للمواد الدوائية سواء كانت أولية أو بأشكالها الصيدلانية فإنه يصعب توفر مواد عيارية لها إما بسبب عدم توفرها أو بسبب ثمنها الغالي جداً . وهنا نجد دساتير الأدوية قدمت لنا ثابتة الامتصاصية المئوية $A(1\%, 1\text{cm})$ أو ثابتة الامتصاص المولية ϵ حيث يتم استخدام هذه الثوابت في قانون لامبير للوصول إلى تحديد تركيز المادة المطلوبة.

مثال:

معايرة الكلوربروباميد Chlorpropamide في شكلها الصيدلاني مضغوطات 250 mg باستخدام طيف الأشعة فوق البنفسجية.



نلاحظ من الشكل السابق أن الكلوربروباميد يملك عدد من حاملات اللون من النمط $n\pi^*$ و $\pi\pi^*$ لذلك من المنطقي أنه يملك طول موجة امتصاص اعظمية في مجال ال uv .

حدد الدستور البريطاني طريقة تحليلية لمعايرته وحدد قيمة $A(1\%, 1\text{cm}) = 598$ عند طول موجة 232 nm . فنعتمد على هذه الثابتة في عملية الحساب بتطبيق قانون لامبير بغير لعدم توفر عياري نقي بسهولة.

أجهزة التحليل الطيفي:

بشكل عام تتألف جميع الأجهزة الطيفية من خمسة أقسام هي:

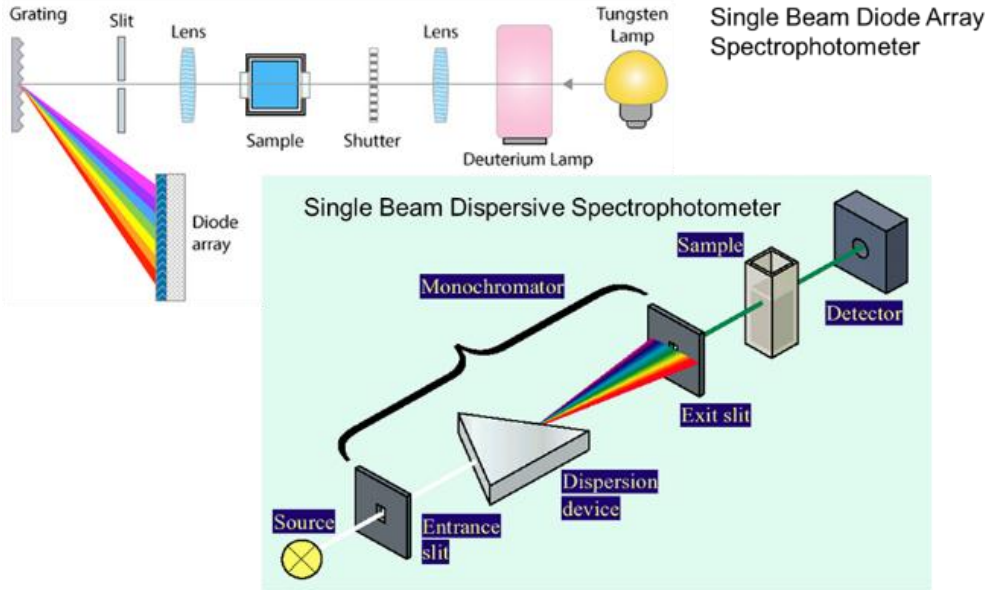
- 1- المنبع الضوئي source.
- 2- مستفرد (ناخب) طول الموجة . λ selector
- 3- خلية العينة (المحفد). Cuvette
- 4- التحري Detector .
- 5- القارئ Readout.

يمكن التمييز بين نوعين من الأجهزة الطيفية :

1- جهاز التحليل الطيفي أحادي الحزمة الضوئية Single Beam Spectrophotometer:

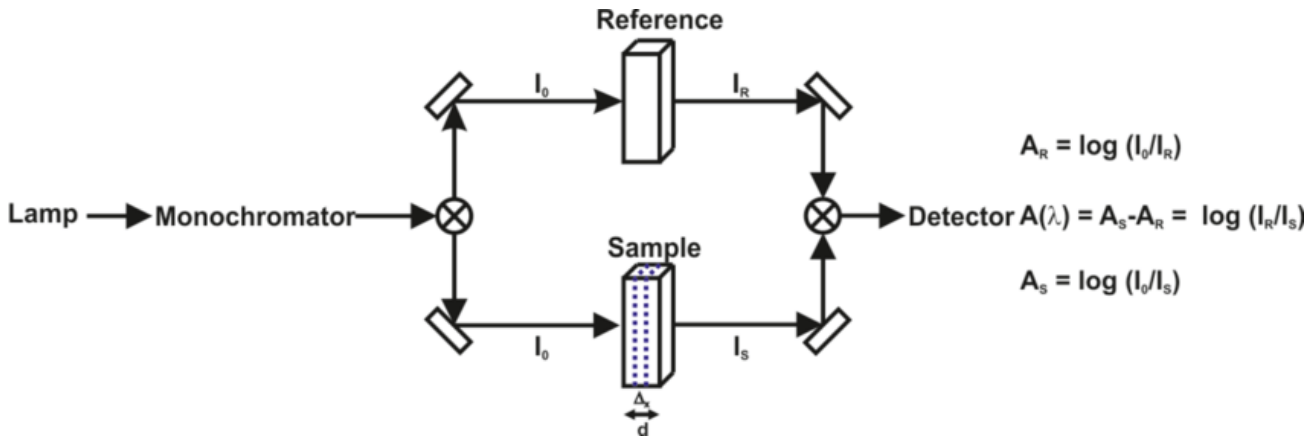
حيث تسير الأشعة في هذا النوع من الأجهزة من المنبع الضوئي إلى المتحري مباشرة ضمن مسار واحد حيث يوجد حجرة واحدة للقياس.

- مشكلة هذا الجهاز أنه لا بد من وضع الشاهد Blank في كل مرة لجعل امتصاصه صفرا ونفاذه 100% ومن ثم تتم إزالة الشاهد وتوضع عينة المادة المراد تحديد تركيزها بحيث إننا لا نستطيع أن نقيس العينة بأن واحد مع وجود الشاهد.
- وكما نعلم فإن المعايرة الكمية باستخدام الأشعة الكهرومغناطيسية تعتمد على قياس الأشعة قبل وبعد مرورها عبر محفد العينة ولذلك احتمال الخطأ كبيرا في حال عدم ثبات شدة الحزمة الضوئية، مما أدى إلى انحسار استخدام هذا الجهاز بشكل كبير واستبداله بالجهاز ثنائي الحزمة.



2- الجهاز الطيفي ثنائي الحزمة Double Beam Spectrophotometer

- تنتشر الحزمة الضوئية الواردة إلى حزمتين متساويتين: تمر الأولى من خلال الشاهد (Blank). في حين تمر الأخرى من خلال العينة.
- وتلتقي الحزمتان بعد عبورهما للخلايا ويفاضل الجهاز بينهما لكي يستبعد ماتم امتصاصه من الشاهد (أي يتم طرح ما امتصه البلائك مما امتصته العينة).

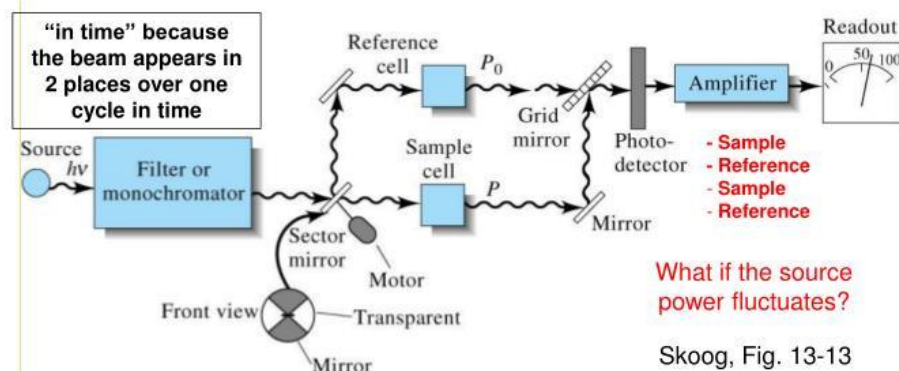


- عادة يوجد في هذا النوع من الأجهزة أكثر من مكان لوضع العينات (ست أو سبع أماكن) حيث يمكننا قياس جميع العينات مباشرة واحدة تلو الأخرى.
- ولكن بالتجربة وجد العلماء أن انقسام حزمة الأشعة إلى قسمين متساويين غير محقق عمليا وصعب. لذلك قام بعض العلماء بتطوير الجهاز حيث يعتمد على تقسيم الأشعة زمنيا وليس عيانيا. حيث وجدوا أن توزيع الأشعة يصبح متساويا عندما نمرر الأشعة نفسها على الشاهد وعلى العينة بالتناوب بفترات زمنية ثابتة ثم يتم التفاضل بينهما. وسميت حينها الأجهزة ثنائية الحزمة بالوقت Double Beam in Time spectrophotometer.
- تتمتع هذه الأجهزة ثنائية الحزمة الضوئية بدقة عالية.
- يوضح الشكل التالي الرسم التخطيطي:

Double-beam in time UV vis spectrometers



- Beam is split in two, but measured by same detector



Skoog, Fig. 13-13

أقسام جهاز التحليل الطيفي:

1- المنبع الضوئي Light Source:

- ✓ تتألف منابع الإشعاع الكهرومغناطيسي من مواد قابلة للتهييج، إما :
 - ✓ بفعل تغريغ كهربائي ذو فرق كمون عالي.
 - ✓ أو بالتسخين الكهربائي إلى درجات حرارة عالية.
- ✓ وكما نعلم فإنه عندما تعود المواد المثيجة إلى حالتها المستقرة فإنها تصدر فوتونات ذات طاقات مميزة مساوية ΔE .
- ✓ وتمتلك بعض المواد مستويات طاقة متعددة ومتقاربة من بعضها البعض بحيث أن الأطوال الموجية للإشعاع الصادر تأخذ هيئة إشعاع مستمر يمتد ليغطي منطقة واسعة من الطيف الضوئي.
- ✓ ومن صفات المصدر الإشعاعي المثالي أنه يبعث طيفا صفاته : مستمر، ذو شدة عالية، منتظم ليغطي مدى أطوال الأمواج المطلوبة وتزيد.

منابع الأشعة فوق البنفسجية Source of Ultraviolet Radiation:

- ✓ مصباح الهيدروجين ومصباح الديتيريوم : من أهم المصادر الإشعاعية المستخدمة في المجال فوق البنفسجي القريب.
 - يتألف كل منهما من زوج من الأقطاب الموجودة في أنبوب زجاجي محكم الإغلاق مجهز بنافذة من الكوارتز ويملاً بغاز الهيدروجين أو الديتيريوم تحت ضغط منخفض.
 - أثناء تطبيق فرق كمون عالي وثابت على القطبين يحدث تفريغ إلكتروني يؤدي إلى إثارة في جزيئات الغاز إلى حالة طاقة عالية جدا لا تلبث أن تعود إلى حالتها المستقرة مصدرة طاقة على شكل إشعاع مستمر من 200 ل 380 nm .
 - يبلغ عمر مصباح الديتيريوم التجاري حوالي 600 ساعة وهو غالي الثمن يقاس عمره بعدد ساعات العمل وليس بالوقت الزمني . لذلك لابد من اطفاء مصباح الuv عند العمل بالمجال المرئي.



مصادر الأشعة المرئية Sources of Visible Radiation:

✓ **يعد مصباح التنغستين Tungsten** : من أكثر المصادر الضوئية استخداما حيث تعتمد على تسخين سلك التنغستين بتيار مستمر ومستقر مما يؤدي إلى إثارة الكاتودات السلك ومن ثم إصدار إشعاع مستمر يمتد من 380 إلى 2200 nm ويتميز هذا المصدر بكونه رخيص الثمن وشبيه جدا بالمصباح العادي



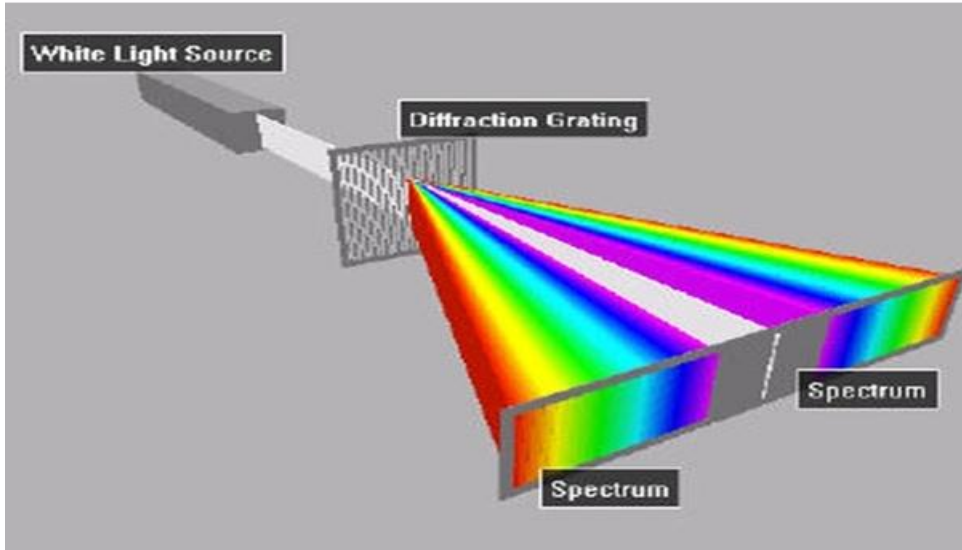
2- موحد (مستفرد) طول الموجة (ناخب الضوء أحادي اللون) Monochromator:

تكمُن أهميته في فصل الأشعة الساقطة حسب طول موجتها، من أجل الحصول على إشعاع أحادي اللون وذلك لزيادة حساسية الطريقة التحليلية من جهة وللمنع حدوث انحراف عن قانون لامبير بيير من جهة أخرى.

هناك ثلاثة أنواع للمستفرد اللوني:

- ✓ **المراشح filters** : تصنع من مواد خاصة لا تسمح بالنفوذ إلا لمناطق محددة في حين تمتص معظم الإشعاع ذو الأطوال الموجية الأخرى.
- ✓ **المواشير prism** : تستخدم لتبديد اللون، و من خلال تدوير الموشور بزوايا معينة نستطيع تحديد الموجة المحددة.
- ✓ **شبكة الانحراف Diffraction Grating**: يستخدم فيها لوحة زجاجية أو معدنية مملوءة بأخاديد تتبع نظاما خاصا يعتمد على قوانين الانحراف على تلك الأخاديد. تستخدم هذه الطريقة في الأجهزة الحديثة.

Diffraction Grating



3- حجرة العينة (الخلية ، المحفد) cuvette :

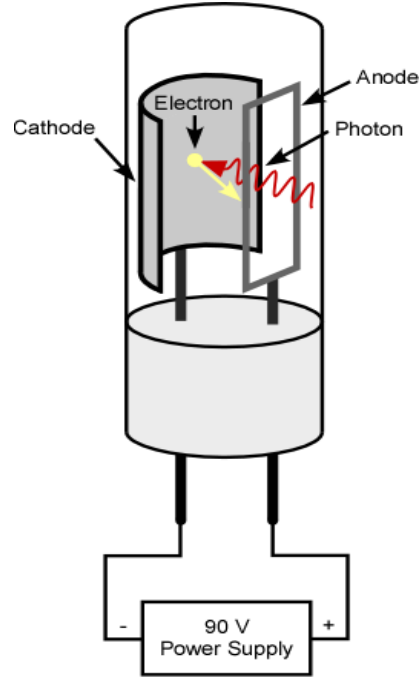
يتم صنع الخلية من مواد لا تمتص الأشعة الضوئية في المجال الذي نعمل به. ففي مجال الأشعة فوق البنفسجية تستخدم محافد مصنوعة من الكوارتز أو من السيليكا المصهورة لأنها الوحيدة التي لا تمتص أشعة الuv ، في حين في المجال المرئي نستخدم محافد مصنوعة من البلاستيك أو الزجاج ويمكن استخدام الكوارتز أيضا.

4- المتحري (الكاشف) Detector :

هو القسم من الجهاز الذي يعمل على تحويل الاستجابة (الشعاع الضوئي النافذ) إلى إشارة مقروءة قابلة للقياس تعبر عن كمية أو تركيز المادة يوجد ثلاث أنواع من المتحريات في مجال الأشعة المرئية وفوق البنفسجية:

➤ الأنبوب الضوئي photo tube:

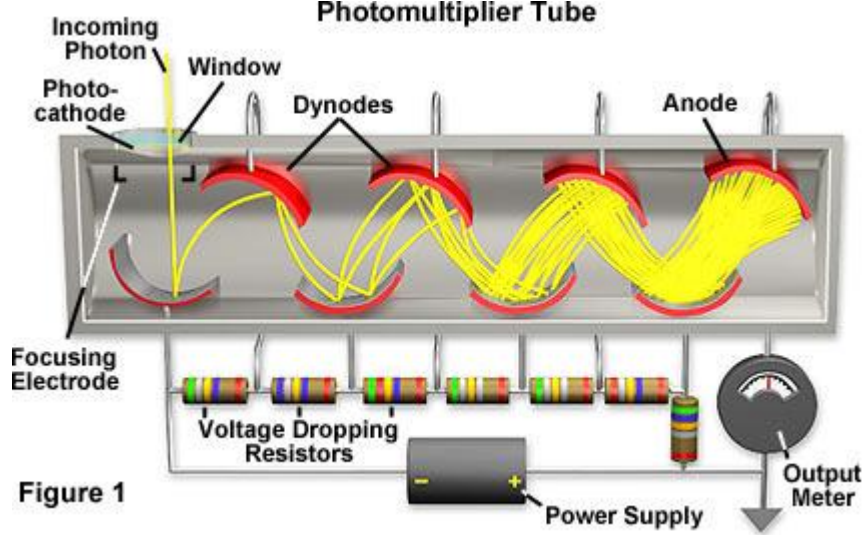
يعمل على تحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كهربائية وذلك من خلال اصطدام الضوء بالمهبط (cathode) وهو عبارة عن سطح معدني واسع على شكل نصف اسطوانة حساس للأشعة حيث يطلى سطحه الداخلي بمركب يحتوي على الكترولونات ضعيفة الارتباط (سهلة الاستثارة والتأين) مثل أكاسيد القلويات أو القلويات الترابية. فعند سقوط الضوء (الفوتونات) يصطدم بها مؤديا إلى تحرر الالكترولونات نتيجة امتصاصها لطاقة الفوتونات ثم تتجه هذه الالكترولونات مباشرة إلى المصعد (anode) الذي هو عبارة عن سلك معدني مركزي يلتقطها ويحولها إلى تيار كهربائي يتم قياسه، تتناسب شدة هذا التيار مع كمية الأشعة الساقطة على الخلية الكهرضوئية. هناك فرق في الكمون بين القطبين 90 فولت. يستخدم هذا المتحري حصرا في مجال الuv.



➤ الأنبوب الضوئي المضاعف Photomultiplier:

أكثر استخداما من المتحري السابق لكنه مشابه له من حيث المبدأ حيث يحتوي على مهبط تقوم فوتونات الضوء النافذ بتحرير الالكترولونات منه. ويختلف عنه باحتوائه على مجموعة من الصفائح dynodes التي تملك فعالية الكترونية ومثبتة بشكل يسهل استقبال الالكترولونات من الصفيحة التي قبلها ويطبق على كل صفيحة منها فرق كمون أعلى من التي قبلها، وفي النهاية نحصل على تضخيم كبير جدا للتيار. فعندما يرد الضوء النافذ على المهبط الأول فإنه يؤدي إلى انتزاع الالكترولونات منه تماما كما في حالة المتحري

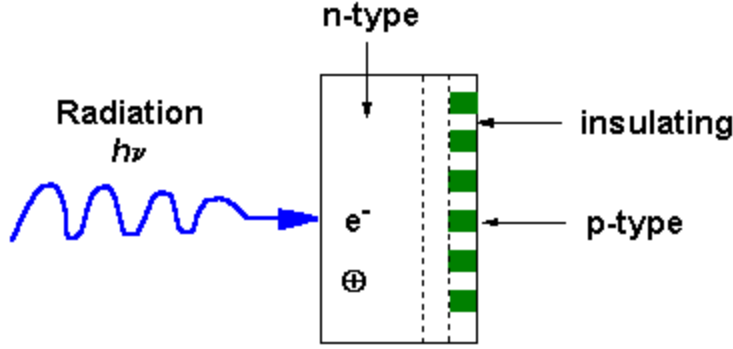
الأول . ويتم توجيه هذه الإلكترونات لتصطدم بالصفحة التالية مما يؤدي إلى انتزاع الكترونات إضافية من الصفحة الثانية (تتم مضاعفة الإلكترونات) . ومن ثم تتجه جميع الإلكترونات إلى الصفحة الثالثة وهكذا إلى ان تصل إلى المصدر حزمة كبيرة جدا من الإلكترونات والتي تسبب مرور تيار شدته كبيرة ومتناسبة مع كمية الضوء النافذ والتي تتناسب مع كمية الضوء التي سقطت على المهبط الأول . حساسية هذا المتحري عالية جدا ويستخدم في المجال المرئي والـ uv .



➤ : Solid State Photodiodes

عبارة عن خلية تحتوي عجينة كريستالية معجونة مع السيليكا وتملك قطبين عند تطبيق عليهما فرق كمون :

- القطب الأول غني بالإلكترونات n-electron .
- القطب الثاني فقير بالإلكترونات p-electron .
- وبالتالي عندما يسقط الضوء على هذه الخلية تتحرر الإلكترونات من الجهة الغنية للإلكترونات وتتجه نحو الجهة الفقيرة بالإلكترونات فينشأ نتيجة حركة هذه الإلكترونات تيار كهربائي متناسب شدته مع شدة الضوء الوارد نتيجة سقوط الضوء النافذ على الخلية



معلومة هامة:

الاشتقاق الكيميائي :

كل تفاعل يجرى على المادة دون أن يؤدي إلى تخریبها أو شطرها، وإنما يعتمد على تغيير وظيفة جانبية أو إدخال جذر صغير أو الارتباط بوظيفة جانبية موجودة في المركب كمجموعة OH أو COOH أو NH₂ بحيث تحصل على مركب ملون وتناسب شدة اللون مع تركيز المادة في الوسط وبالتالي نستطيع معايرتها .

أمثلة عن الاشتقاق:

- 1- المركبات الفينولية تعطي مع أملاح الحديد FeCl₃ معقد بنفسجي اللون يمكن قياس امتصاصه ضمن المجال المرئي 330 – 350 nm .
 - 2- الأمينات لها كواشف خاصة تتفاعل معها هي : 1-كلورو و 2،4 – دي نتروبنز يعطي معها لون أصفر يقاس 450 nm .
 - 3- نتروبنز – ديزول 7 فلور NDBF يتفاعل مع الأمينات ويقاس عند طول موجة 465 nm .
- 3- المعادن الأساسية ممكن أن تكون مادة فعالة في الدواء أو في السوائل الحيوية للجسم. لذلك ممكن أن نضطر إلى معايرتها فسندكر بعض الأمثلة لكواشف تتفاعل مع المعادن وتعطي مركبات ملونة ممكن قياسها بطريقة الامتصاص الضوئي:

العنصر المعدني	طريقة الاشتقاق
الحديد	نعامل الحديد مع مركب 1,10 فينانترولين
الرصاص	نعامله مع مركب Dithizone
الزنك	نعامله مع كاشف zincon
الكروم	نعامله مع مركب Diphenylcarbazide

علما أن أفضل طريقة لمعايرة المعادن هي الإصدار الذري أو الامتصاص الذري . ولكن في حال عدم توفر هذه الأجهزة ممكن أن تعابير ضوئيا بعد اجراء الاشتقاق المناسب عليها.