



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة أم القرى

كلية العلوم

قسم الكيمياء

الأشعة فوق البنفسجية

طرائق التقدير الكمي والتطبيق

طالب الدكتوراه

أيمن صادق جعفر السامرائي

مطيافية امتصاص الأشعة فوق البنفسجية - المرئية

يمكن تعريف المطيافية Spectroscopy بأنها العلم الذي يعنى بدراسة تفاعل الإشعاع الكهرومغناطيسي مع المادة⁽¹⁾ ، أما الأشعة الكهرومغناطيسية فيمكن تعريفها بأنها شكل من أشكال الطاقة والتي تنتقل في الفراغ بسرعة فائقة ، كما ان لها صور متعددة كالضوء والحرارة المشعة والأشعة السينية والأشعة فوق البنفسجية - المرئية والأشعة تحت الحمراء والموجات الميكروية والموجات الراديوية⁽²⁾ .

إن أهمية التحليل بالطرائق الطيفية تكمن في أن الإشعاع الممتص هو صفة مميزة للمادة الماصة فعندما يتم تعريض النموذج إلى أشعة كهرومغناطيسية فسوف ينتج طيف الامتصاص والذي يمثل كمية الإشعاع الممتص عند طول موجي معين الذي تمتصه الجزيئة أو الذرة لذلك فقد استخدمت هذه الطريقة في التحليل النوعي والكمي⁽³⁾ ، وعلى الرغم من محدودية استخدام الامتصاص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية - المرئية لأغراض التحليل النوعي ، إلا أنها تعد إحدى أهم الوسائل لأغراض التحليل الكمي وذلك لأنها ذات انتقائية ودقة وضبط عالية إضافة الى السهولة والسرعة في الأداء التحليلي⁽⁴⁾ . كما أنه من الممكن استعمالها في تقدير تراكيز قليلة جداً من المادة تتراوح بين $(10^{-6}-10^{-5} \text{ M})$ ⁽⁵⁾، ويعتمد امتصاص الطاقة الإشعاعية على عدد وترتيب الإلكترونات في الجزيئات أو الأيونات الماصة⁽⁶⁾ .

وهناك عدد من الانتقالات وهي⁽⁷⁾:

انتقالات $\sigma \leftarrow \sigma^*$ حيث تحدث عند أطوال موجية قصيرة أقل من (200) نانومتر .

انتقالات $n \leftarrow \pi^*$ والتي تحدث عند أطوال موجية من (150-600) نانومتر .

انتقالات $\pi \leftarrow \pi^*$ وتحدث في المنطقتين فوق البنفسجية والمرئية (180-700) نانومتر .

إن الأشعة الأقل من (190 nm) يستلزم العمل فيها حيزاً مفرغاً وخالياً من الأوكسجين والغازات الأخرى لذلك فإن المنطقة المهمة من الأشعة فوق البنفسجية هي التي تقع بين (200-380 nm) لأنها توفر الطاقة اللازمة للانتقال من $(\pi \leftarrow \pi^*)$ وبزيادة عدد أو اصر باي في الجزيئة التي تكون في حالة تعاقب فإن الطاقة اللازمة للإثارة تكون قليلة لتصل إلى المنطقة المرئية من الطيف ، إن قياس الأشعة الممتصة من قبل دقائق المحلول يخضع لقانون بير لامبرت (Beer-Lambert Law) ، اما حساسية الطريقة الطيفية فتقاس من خلال استخدام معامل الامتصاص المولاري ومعامل ساندل (Sandel's Index) والذي يمكن تعريفه بأنه عدد مايكروغرامات المركب المراد تقديره والذي يتحول إلى ناتج ملون ليعطي امتصاصية مقدارها

0.001 وحدة امتصاص عندما يكون في خلية ذات سمك (1 cm) ، وهو مقياس لحساسية الطريقة الطيفية ويعبر عنه رياضياً⁽⁸⁾ :

$$\text{Sandell's Index} = \frac{M \cdot wt}{\epsilon}$$

حيث إن :

$M \cdot wt$ = الوزن الجزيئي أو الوزن الذري .

ϵ = الامتصاصية المولارية .

وإن وحدة معامل ساندل هي ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)

قانون الامتصاص (قانون لامبرت-بير)

ينص قانون بير – لامبرت على "أن الزيادة المتتالية في عدد الجزيئات المتماثلة الماصة للإشعاع والواقعة في طريق حزمة من اشعاع أحادي اللون تمتص أجزاء متساوية من الطاقة الإشعاعية المارة بها⁽²⁾ . وهو قانون الامتصاص العام والذي يعبر عن علاقة كمية بين تركيز محلول القياس وشدة الضوء الممتص ، والذي يكتب بالصيغة الآتية^(8,9) :

$$\log \frac{I_o}{I} = A = \epsilon b C$$

حيث إن :

I_o : شدة الأشعة الساقطة .

I : شدة الأشعة النافذة من المحلول .

A : الامتصاصية Absorbance .

ϵ : معامل الامتصاص المولاري (وحداته لتر. مول⁻¹. سم⁻¹) .

b طول مسار الأشعة بوحدة سم .

C التركيز بوحدة مول/لتر .

والعلاقة ما بين b ، A وبين A ، c هي علاقة خطية تمر بنقطة الاصل نظرياً ، ولكن عملياً وجد بأن العلاقة ما بين الامتصاصية وطول مسار الشعاع b هي علاقة خطية دائماً ، في حين

يُحصل انحراف عن الخطية في العلاقة ما بين A ، c ويكون إما انحرافاً موجباً (Positive deviation) أو انحرافاً سالباً (Negative deviation) وهذا الانحراف يحصل بسبب عدة عوامل قد تكون آلية أو كيميائية أو أخطاء عشوائية أو أخطاء ناتجة عن التركيز⁽²⁾ ، وهناك عدة صفات يجب أن تتوفر في المحاليل التي تقاس بالطريقة الطيفية⁽¹⁰⁾ وهي:

1. لون المحلول يجب أن يكون ذو شدة عالية بحيث يسمح بتقدير كميات ضئيلة من المادة المحللة وأن لا يضمحل بسرعة .
2. يجب أن يظهر اللون بسرعة ولا يتأثر بتغير الدالة الحامضية أو درجة الحرارة .
3. يجب أن يكون التفاعل ذا انتقائية عالية وأن يخضع الناتج الملون لقانون بير - لامبرت وبذلك يعطي دقة أعلى من الناتج الملون الذي لا يتبع قانون بير .
4. يجب أن يكون الكاشف الكيميائي غير ملون وإذا كان ملون يجب ألا يعطي امتصاصاً مشابهاً للمركب الملون ويفضل أن يمتص المحلول في المنطقة المرئية بصورة أفضل من امتصاصه في المنطقة البنفسجية وذلك لوجود عدد كبير من المواد من المحتمل أن يتداخل امتصاصها في المنطقة فوق البنفسجية .
5. يجب أن يكون الناتج الملون مذاباً في المحلول المائي أو في مذيب عضوي غير ممترج .

التقدير الطيفي الكمي

بعد معرفة الطول الموجي الذي عنده يحدث أعظم امتصاص لأي مادة ماصة للإشعاع فإن تقديرها سوف يتم بسرعة وبعد ذلك يتم قياس قيمة الامتصاص عند الطول الموجي الذي تم تثبيته^(11,12) ثم يحسب تركيز المادة بإحدى الطرائق الآتية :

1. استخدام القيمة القياسية لمعامل الامتصاص المولاري

عند حدوث الانتقالات الأكثر احتمالية (أكثر حساسية) فإن قيمة معامل الامتصاص المولاري تكون ($\epsilon \geq 10^4$) وفي حالة حدوث الانتقالات الأقل احتمالية (أقل حساسية) فإن قيمته ستكون ($\epsilon \geq 10^3$)⁽¹³⁾ ، ويتم الحصول على معامل الامتصاص المولاري من الجداول الموجودة في دستور الأدوية البريطاني أو أي من الدساتير الأخرى ثم يطبق قانون بير – لامبرت لقياس التراكيز⁽¹²⁾ .

2. استخدام المنحني القياسي

تتم الطريقة بتحضير سلسلة من المحاليل للمادة المراد تحليلها وبتركيز مختلفة ثم يرسم المنحني القياسي بين الامتصاص والتركيز ومن خلال منحني المعايرة يتم تعيين تركيز المجهول، ويستخدم المنحني القياسي في تقدير بعض المواد التي تمتص الأشعة في المنطقة

فوق البنفسجية - المرئية من الطيف الكهرومغناطيسي والتي تعتمد على تحول المادة من مادة غير ملونة إلى ملونة أو بتكوين معقد⁽¹⁴⁾ .

3. طريقة المقارنة القياسية

يتم في هذه طريقة قياس امتصاص محلول النموذج والمحلل القياسي . إذ يجب أن يكون محلول النموذج مشابهًا للمحلل القياسي وأن يكون تركيز المحلول القياسي قريبًا إلى تركيز النموذج وبعد قياس امتصاص النموذج والمحلل القياسي يتم تطبيق العلاقة الآتية لحساب تركيز النموذج⁽¹⁵⁾ :

$$C_{test} = \frac{A_{test} \times C_{std}}{A_{std}}$$

إذ إن :

C_{std} ، C_{test} : تركيز محلول النموذج والمحلل القياسي على التوالي .

A_{std} ، A_{test} : امتصاص محلول النموذج والمحلل القياسي على التوالي .

4. طريقة المقارنة القياسية المزدوجة

في هذه الطريقة يتم تحضير محلولين (A و B) ، المحلول A يحتوي على المجهول والمحلل B يحتوي على حجم من محلول A ويضاف إليه جزء مقاس من المحلول القياسي أعلى بمائة مرة من تركيز المجهول وبتطبيق المعادلة أدناه يتم حساب المجهول برسم العلاقة بين عدة تراكيز حاوية على حجوم متزايدة من المحلول القياسي مقابل الامتصاص وامتداد الخط المستقيم يتقاطع مع الجزء السالب من المحور السيني ، ونقطة التقاطع هذه تمثل تركيز المجهول⁽¹⁵⁾ .

$$C_{un} = \frac{A_{un} C_{st}}{A_{un+st} - A_{un}}$$

حيث :

A_{un+st} : تمثل امتصاص كل من محلول النموذج والقياسي.

C_{un} ، C_{st} : تمثل تركيز المحلول القياسي والمجهول على التوالي .

5. تقدير الانظمة ذات المكونات المتعددة

إذا كان النموذج يحتوي عقارين هما (y, x) يمتصان عند الأطوال الموجية (λ_2, λ_1) فيمكن في الحالة هذه تقدير كل منهما بطريقة المعادلات الرياضية بعد معرفة الامتصاصية المولارية لكل فصيلة عند كل طول موجي ثم يتم حل المعادلات وإيجاد التركيز والصيغة العامة للمعادلات هي⁽¹⁵⁾ :

$$A_1 = \epsilon_{x1} b C_x + \epsilon_{y1} b C_y \quad \text{عند طول موجي } \lambda_1$$

$$A_2 = \epsilon_{x2} b C_x + \epsilon_{y2} b C_y \quad \text{وعند طول موجي } \lambda_2$$

إذ إن ϵ_{xn} و ϵ_{yn} الامتصاصية المولارية للعقارين x, y .

وتقسم هذه الطريقة الى :

• طريقة محلل البلاك

إنّ المستحضرات الدوائية نادراً ما تحتوي على مركب واحد في تركيبها ، فيمكن التخلص من المتداخلات عن طريق إدخال المتداخلات ضمن المحلول الصوري (البلاك) الذي يمثل امتصاص جميع مكونات النموذج عدا المادة المراد قياسها⁽¹⁶⁾ .

• طريقة نسبة الامتصاص

تستعمل هذه الطريقة لتقدير مكونين في مزيج واحد وذلك بقياس الامتصاص عند طولين موجيين مختلفين ، أولهما يمثل الامتصاص الأعظم للمكون الأول ، وأما الآخر فيمثل الطول الموجي الذي تتساوى عنده الامتصاصية وكذلك يتساوى عنده أيضاً معاملي الامتصاص المولاري للمكونين $(\epsilon_x = \epsilon_y)$ والتي تدعى (Isobestic point) وتصبح المعادلات بالشكل التالي :

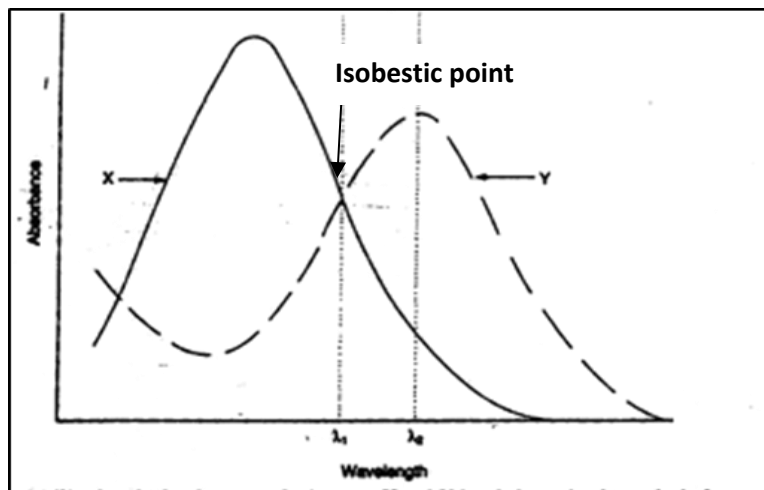
$$A_1 = \epsilon_{x1} C_x + \epsilon_{y1} C_y$$

$$A_2 = \epsilon_{x2} C_x + \epsilon_{y2} C_y$$

$$Q = \frac{A_2}{A_1} = \frac{\epsilon_{x2} C_x + \epsilon_{y2} C_y}{\epsilon_{x1} C_x + \epsilon_{y1} C_y}$$

إذ يطلق على النسبة بين A_2 / A_1 بقيمة Q (Q value) ، وهذه الطريقة هي تحويل لطريقة المعادلات الانية ، إذ تعتمد على صفة أن المادة تخضع لقانون بير- لامبرت عند جميع الأطوال

الموجية لذلك فإن النسبة بين الامتصاصات عند طولين موجيين هي قيمة ثابتة لا تعتمد على التراكيز أو طول مسار الاشعاع داخل المحلول وهذه الطريقة مستعملة في دستور الأدوية البريطاني BP^(15,16) ، والشكل التالي يوضح العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي :



العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي

6. طريقة اشتقاق الطيف

طبق نمط المشتقة لأول مرة في عام 1953م ، فقد تم تطبيقه في مطيافية الأشعة تحت الحمراء (IR)، وبعدها استمرت هذه التقنية في التطور ، وخاصة عندما طبقت مع طرائق تحليلية أخرى منها تحليل مكونات متعددة (multi-component analysis) في مزيج ، وبعد التطور الكبير في أجهزة الحاسوب الرقمية ، وإمكانية استعمالها في تسجيل الأطياف ، فقد تم ربطها مع أجهزة قياس الطيف وبذلك أصبحت عملية اشتقاق الطيف عملية سهلة وواسعة الاستعمال ، حيث تستعمل في مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ومطيافية الأشعة تحت الحمراء ومطيافية الامتصاص ومطيافية الانعكاس ومطيافية التفلور⁽¹⁷⁾ ، إن مطيافية المشتقة هي من الطرائق المهمة لزيادة الانتقائية لأنها تساعد في إزالة تأثير التداخلات ، إذ أنّ المشتقة هي عبارة عن مجموعة من البيانات الرقمية التي تعمل على فصل اشارات الاستجابة للنموذج⁽¹⁸⁾ .

وقد استعملت طرائق مشتقة الطيف لثلاثة أهداف أساسية :

- ❖ للتمييز الطيفي : ويقصد به أنّ مشتقة الطيف تستعمل كوسيلة لتسجيل بصمة الأصبع للتحليل النوعي وذلك لتأكيد وجود الاختلافات التركيبية البسيطة بين أطياف صفرية والتي تكون متشابهة تقريباً .
- ❖ لزيادة تفرقية الطيف : إذ تستعمل مشتقة الطيف كتقنية لزيادة قدرة التفريق بين الحزم الطيفية المتداخلة وذلك لتحديد عدد الحزم وامتصاصاتها بسهولة أكبر .

❖ في التحليل الكمي : تستعمل مشتقة الطيف كتقنية لتصحيح امتصاصات الخلفية لمكونات في العينة ليست ذات علاقة ، كما أنها تستعمل كوسيلة لتسهيل وتسريع عملية تحليل مكونات متعددة في النموذج .

ومن أهم تطبيقات طريقة اشتقاق الطيف هي:

- أ- تحليل مكونات متعددة في آن واحد⁽¹⁹⁾.
- ب- حساب بعض الثوابت الكيميائية والفيزيائية⁽²⁰⁾.
- ت- التحقق من حركية بعض العمليات⁽²¹⁾.

تطبيقات الأشعة فوق البنفسجية والمرئية

- 1- طريقة التجمعات الأيونية Method of Ion Pairs⁽²²⁾.
- 2- طريقة الصبغة الحامضية Method of acid dye⁽²³⁾.
- 3- مشتقات أملاح الديازونيوم Derivatives of diazonium salts⁽²⁴⁾.
- 4- اختزال أملاح التترازوليوم Reduction of tetrazolium salts⁽²⁵⁾.
- 5- معقدات ليكاند-أيون فلزي Metal-ligand complexation⁽¹⁶⁾.
- 6- طرائق الأكسدة Oxidation methods⁽²⁶⁾.
- 7- طرائق الأزوتة والاقتران Azotization and Coupling methods⁽²⁷⁾.
- 8- التفاعلات التكتيفية أو تفاعلات قواعد شف Schiff base ,condensation reaction⁽¹⁵⁾.
- 9- تفاعلات قواعد مانخ Manch bases reactions⁽²⁸⁾.
- 10- تفاعلات الأكسدة والاقتران Oxidative coupling reactions⁽²⁸⁾.

المصادر:

1. Skoog, D. A. and West, D. M. ; "Fundamentals of Analytical Chemistry ", 4th Ed, Saunders College Publishing Company, 478-486 ,1982 .
2. الحيدري ، عبد المحسن عبد الحميد ، التحليل الكيميائي الآلي ، مطبعة جامعة بغداد ، ص: 316-321 ، 1992 .
3. Kebbecus, B.B. and Mirta, n. ; " Environmental chemical analysis" Biackie Academiol Professional, 1998 .
4. التكريتي ، قيس ناجي رشيد ؛ رسالة ماجستير ، جامعة تكريت – كلية التربية للبنات ، 2005 .
5. Skoog, D.A. , West, D.M. .Fundamentals of Analytical Chemistry. 5th Ed. Saunders College Publish Company, London, p:505, 1988 .
6. فتحي أحمد عبيد ، طرق التحليل الآلي . دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل ، ص: 37 ، 1988 .
7. Skoog ,D.A. and D.M. West. principles of Instruments Analysis. 2th Ed., Saunders ,Philadelphia, chapter.6, 1980 .
8. Galen W. and wing E. Instrumental Methods of Chemical Analysis, 4th Ed., Kosido Co., Ltd .Tokyo Japan, 1981 .
9. Sandell. E.B, Onishi. H. Photometeic determination of trace of metals – general aspects. 4th Ed. John Wiley & Sons, New York. 1978.
10. العبايجي، مؤيد قاسم و الحافظ، محمد صالح عبد القادر ؛" التحليل الآلي في الكيمياء التحليلية" ، الدار العلمية الدولية للنشر والتوزيع ودار الثقافة للنشر والتوزيع عمان-الأردن، ص: 26-27 ، 2002 .
11. Douglas, A., Donald, M., Jamis, F. and Stanley, R. Analytical chemistry; 7th Ed , Saunders college publishing London, 2000 .
12. G. David and Watson; Pharmaceutical Analysis, Harcourt publishers Lamited, 1999 .

13. العبايجي، مؤيد قاسم والغبشة، ثابت سعيد ، أسس الكيمياء التحليلية ، جامعة الموصل – مديرية مطبعة الجامعة . ص: 343، 305 – 308، 1986 .
14. Kantikanchi P.R. and S. M. Vpadrashta, J. Pharm., Vol:23, p:1109, 1995 .
15. Beckett A. H. and J. B. Stenlake. "Practical Pharmaceutical Chemistry". 4th Ed., The Athlone press London part Vol:1, p:108-110, 1988 .
16. Beckett A.H., Stenlake J.B., Practical Pharmaceutical. , part (2), 4th Ed, P: 176-188, 1998 .
17. S. Sigurds, A. G. Varian,"Applications of UV-Visible Derivative Spectrophotometry A review of Areas of Application And the Basic Principles of the Derivative Technique", Part (I), p: 33, 1986 .
18. Talsky, G. "Derivative Spectrophotometry", 1st Ed., VCH, Weinheim, p: 16-9, 1994 .
19. Uddin, J. "Macro to Nano Spectroscopy". P: 257, 2012 .
20. Gumustas, M., Sanli, S., Sanli, N., and S. Ozkan, "Determination of Pka Values of Some Antihypertensive Drugs by Liquid Chromatography Andsimultaneous Assay of Lercanidipineand Enalaprilin Their Binary Mixtures", J.Talanta.,Vol: 82, p: 1528-37, 2010 .
21. Piontek, J.C., Lunzer, A., and Jelinska, A. "Stability-Indicating Derivative Spectrophotometry Method for the Determination of Biapenem In The Presence Of Its Degradation Products", Cent Eur J. Chem., Vol: 9, Issue: 1, p: 35-40, 2011 .
22. Sunshin I. , H, book of Spectrotometric Data of Drugs. , CRC press Boca. Ratou. , 1981.
23. Silverstein R. "Spectrometric Identification of Organic Compounds", John Willy and Sons, Inc, New York, p: 361, 1974 .

24. Davidson, A. G. Assay of chlordiazepoxide and demoxepam in chlordiazepoxide formulations by difference spectrophotometry. J. pharm. Sci., Vol: 73, Issue: 1, p: 55-58, 1984 .
25. Anderson T. W. , Selove L., Introduction statistical Analysis . 4th Ed, Houghton Mifflin Co., 1974.
26. Harry B., Mark J. R. , Garry A. "Kinetics in Analytical Chemistry". J. Anal. Chem., p: 24, 1980 .
27. Davidson, A. G. and Elsheikh, H. Assay of ephedrine or pseudoephedrine in pharmaceutical preparations by second and fourth derivative ultraviolet spectrophotometry. Analyst, Vol:107, Issue:1277, p: 879-884, 1982 .
28. صفاء عبد العليم ، رسالة ماجستير، جامعة الموصل- كلية العلوم، 2006 .