

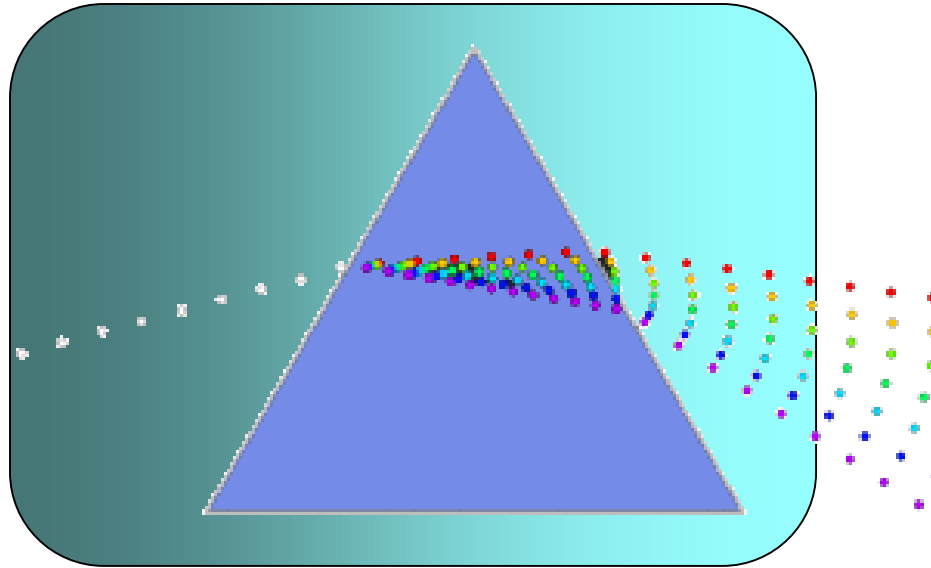


كلية: الصيدلة	مقرر: الكيمياء الفيزيائية الصيدلانية
الرمز:	مدرس المقرر: د. زكي عجي



مطيافية الأشعة ما فوق البنفسجية و الضوء المرئي

UV-Visible spectroscopy

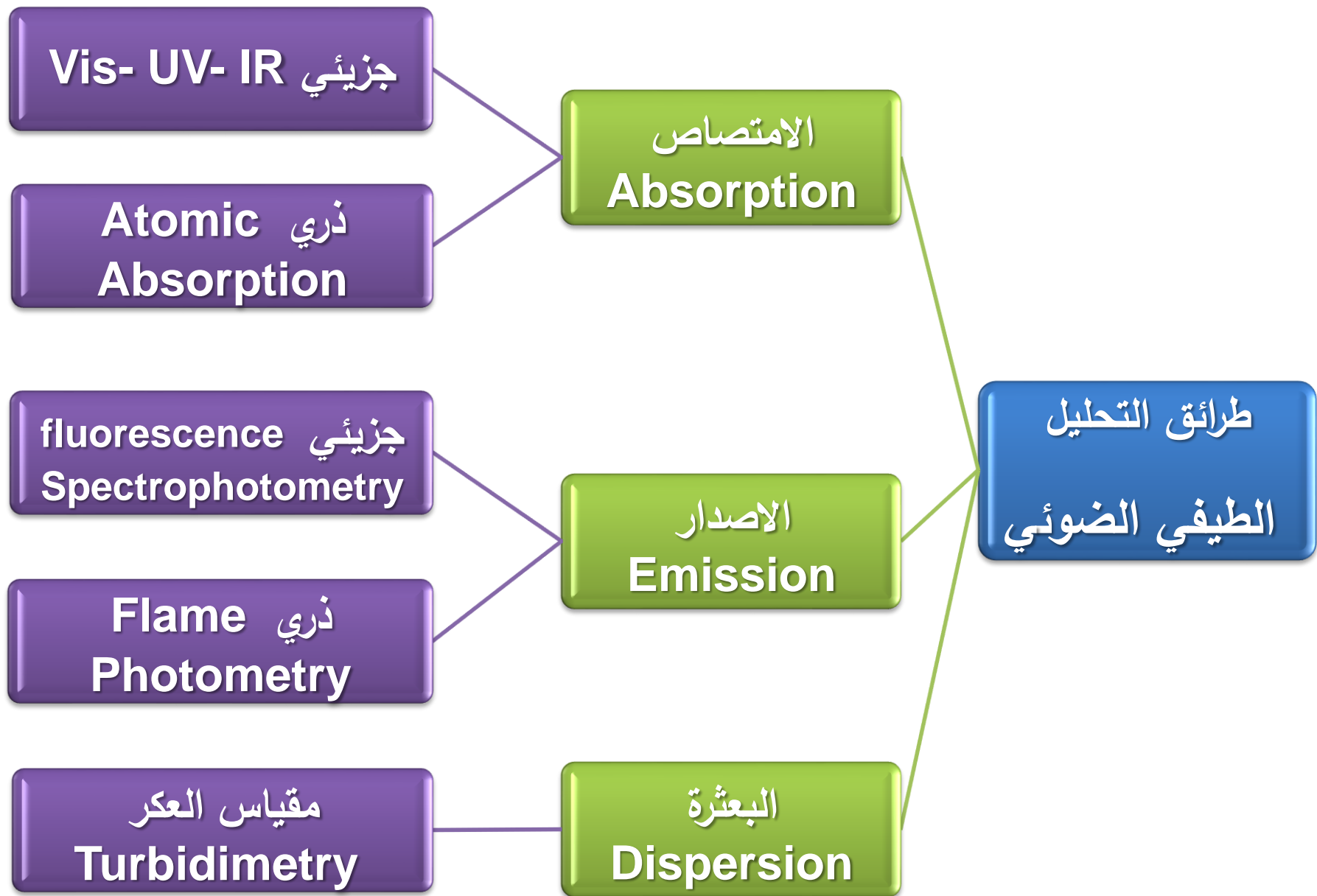


التحليل الطيفي الضوئي

:Spectrophotometric Analysis

سنتحدث اليوم عن صفة فيزيائية تمثل قدرة المادة على امتصاص الضوء أو إصداره
ألا وهي الطرق الضوئية الطيفية.

وهي واحدة من أكثر طرق التحليل شيوعاً وأهمية لأن استخدامها بسيط و سهل
وسريع الإجراءات ونتائجها دقيقة وتستخدم في تحليل المواد عموماً وخاصةً في
الكيمياء الحيوية ومخابر التحاليل الطبية فهي هامة في معايرة الثوابت الفيزيولوجية
(السكر، الكوليسترول، الشحوم الثلاثية، حمض البول، الهرمونات، الفيتامينات،
الكرياتين)، كما تستخدم لمعايرة الأجزاء الصغيرة جداً من المواد البيولوجية
ومعايرة المواد الدوائية.



الامتصاص Absorption

إما أن تكون :

○ الجزيئية تمتص الضوء (امتصاص جزيئي).

○ أو أن تكون الذرة تمتص الضوء (امتصاص ذري) (في حالة الامتصاص الذري

نستخدم جهاز **Atomic Absorption** ويستخدم في تحديد تراكيز عدد كبير

من المعادن.

الإصدار الضوئي (Light Emission):

الذرة أو الجزيئة تمتص الضوء فتنتقل إلى مستوى قدروي **أعلى** ولكن تكون بهذه الحالة **غير مستقرة فتعود** إلى وضعها الطبيعي بعد أن **تصدر** (تبث) **الطاقة** التي امتصتها **على شكل إصدار ضوئي**، نقيس هذا الضوء والذي **يتناسب مع عدد الذرات أو الجزيئات** فنحدد التركيز من خلال **معرفة كمية الضوء الصادر**.

○ **فالذرة** يمكن أن تصدر الضوء، ويتم قياس إشعاع الضوء الصادر **بمقياس**

مطياف اللهب (يستخدم اللهب) **Flame spectroscopy** .

○ أما **الجزيئة** فتصدر الطاقة بعد تحريضها باستخدام الضوء ونستخدم في هذه

الحالة جهاز يدعى: **مقياس التألق (الفلورة) Florescence**

Spectrophotometer.

معادلة بور – أينشتاين (Einstein-Bohr equation):

في حالة الامتصاص أو الإصدار لدينا مستويين قذرويين فمثلاً في حالة الامتصاص عندما تمتص الجزيئة الطاقة تنتقل من مستوى قذروي إلى مستوى قذروي أعلى منه ويعطى فرق الطاقة بين المستويين القذريين بالعلاقة:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu$$

حيث :

E_2 : طاقة المستوي القذروي الأعلى.

E_1 : طاقة المستوي القذروي الأدنى .

h : ثابت بلانك ويعادل 6.624×10^{-34} جول / ثا .

ν : تواتر الشعاع الضوئي Frequency (عدد الأمواج الصادرة عن المنبع

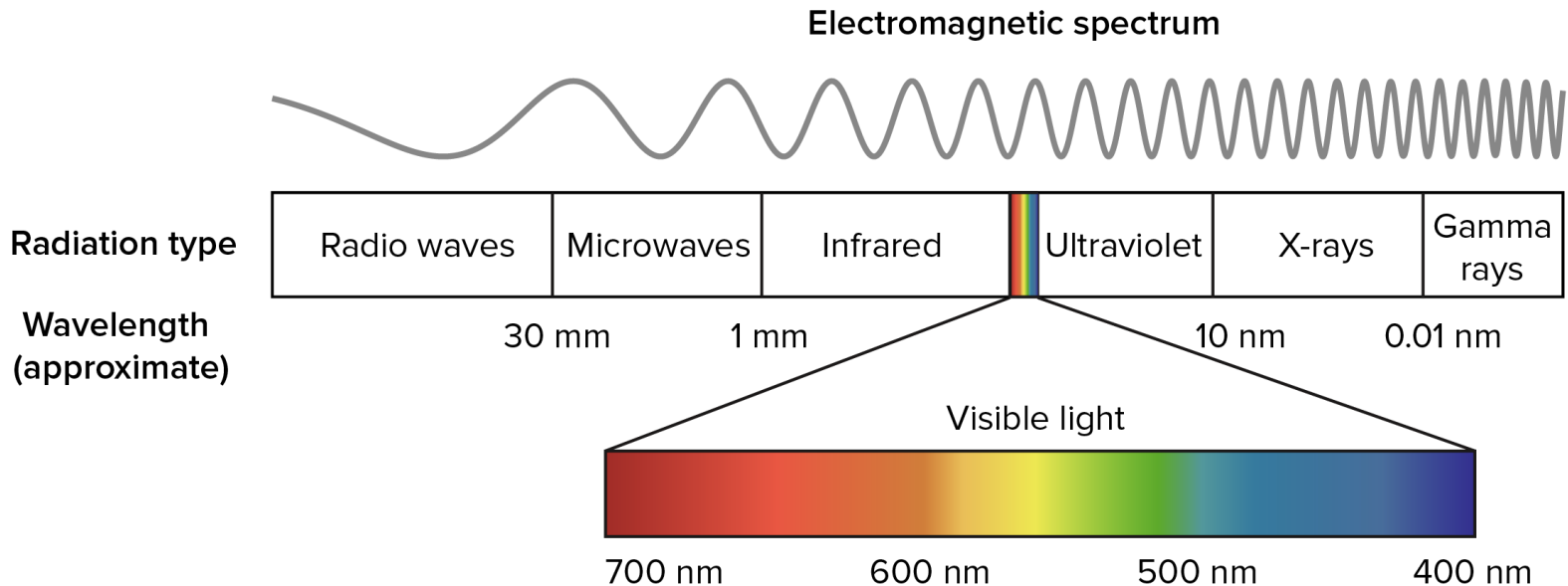
الضوئي في الثانية) ، واحدته الفرزل و تعادل 10^{12} موجة / ثا (يقاس التواتر

أيضاً بوحدة الهرتز Hz).

ملاحظة :

الامتصاص الجزيئي له ثلاثة مجالات :

- امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (UV).
- امتصاص الضوء المرئي (Vis: Visible):
- امتصاص الأشعة تحت الحمراء (IR) .



طيف الأشعة الكهرطيسية:

يمتد من الأمواج فوق القصيرة (الكونية) حتى الأمواج الراديوية (أمواج طويلة).
□ ويحتل **الطيف المرئي** جزء صغير من طيف الإشعاعات الكهرطيسية حيث يمتد بين 4000 إلى (7500-8000) أنغستروم وهو يضم ألوان الطيف السبعة (بنفسجي - نيلي- أزرق- أخضر - أصفر - برتقالي - أحمر).
حيث أن الشعاع الضوئي ذو طول الموجة 4000\AA أو 400nm هو الشعاع البنفسجي، أما الشعاع ذو طول الموجة 7500\AA أو 750nm هو الشعاع الأحمر.

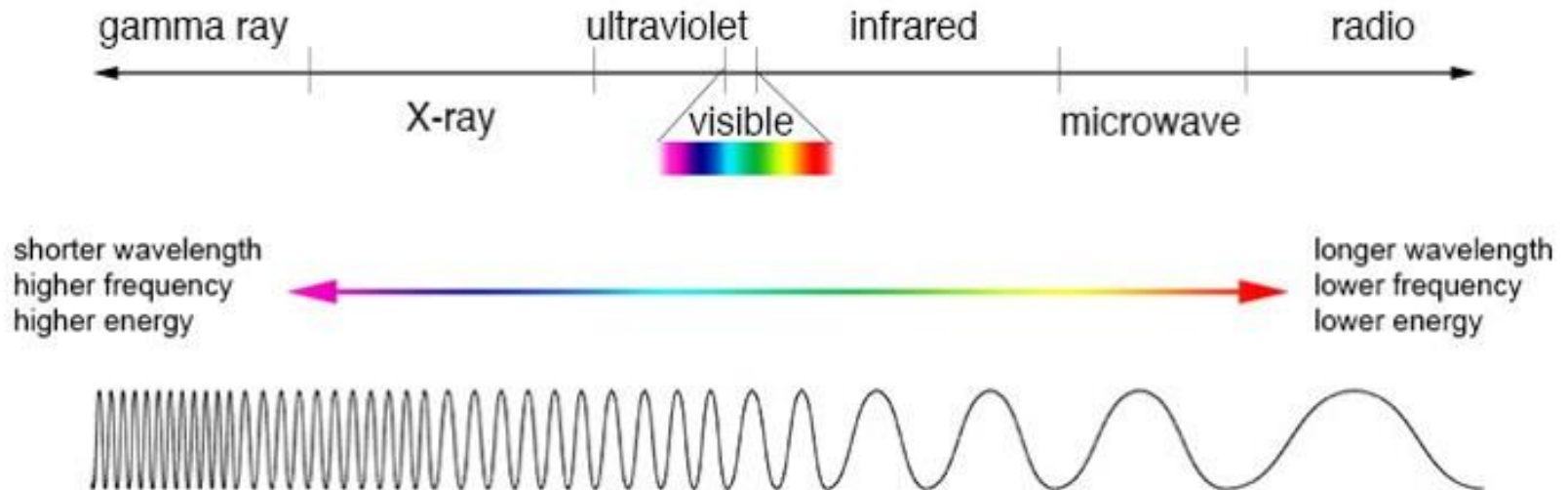
- الشعاع تحت الأحمر (IR) infra-red مجاله فوق الـ 7500\AA .
- الشعاع فوق البنفسجي (UV) ultra violet مجاله بين 2000 و 4000\AA .

الوحدات المستخدمة في قياس أطوال الأمواج:

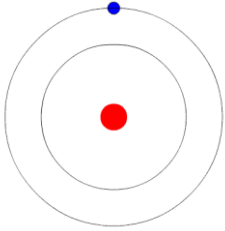
Angstrom	\AA	الأنغستروم
Nanometer	nm	النانومتر
Micrometer	μm	الميكرومتر
centimeter	cm	السنتيمتر
Meter	m	المتر

- الأنغستروم و النانومتر تستخدم كثيراً في مجالي الـ UV و الـ Vis، حيث \AA $1 = 10^{-10}$ meter و $\text{nm} = 10^{-9}$ meter و $\text{nm} = 10\text{\AA}$ بينما في مجال الأشعة تحت الحمراء IR نستخدم وحدات أكبر باعتبار أنه تزداد أطوال الأمواج فنستخدم وحدة الميكرومتر $1\ \mu\text{m} = 10^{-6}$ meter .

ملاحظة: هناك علاقة عكسية بين أطوال الأمواج وطاقاتها، فكلما قل طول الموجة كبرت طاقتها ، فالشعاع فوق البنفسجي أغنى بالطاقة من الشعاع تحت الأحمر.

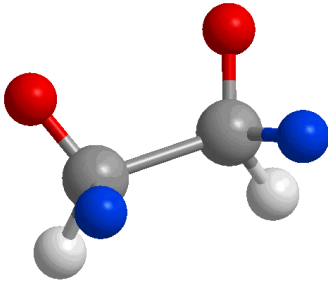


الطاقة الكلية التي يحملها أي جزيء هي عبارة عن مجموع ثلاث أنواع من الطاقة :



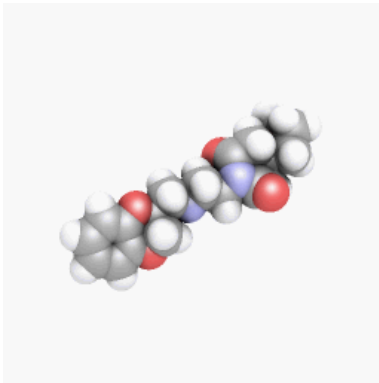
(1) طاقة الكترونية E_e Electronic Energy :

عائدة لتوضع الالكترونات على المدارات المختلفة للذرة.



(2) طاقة اهتزازية E_v Vibrational Energy :

عائدة للنواة .



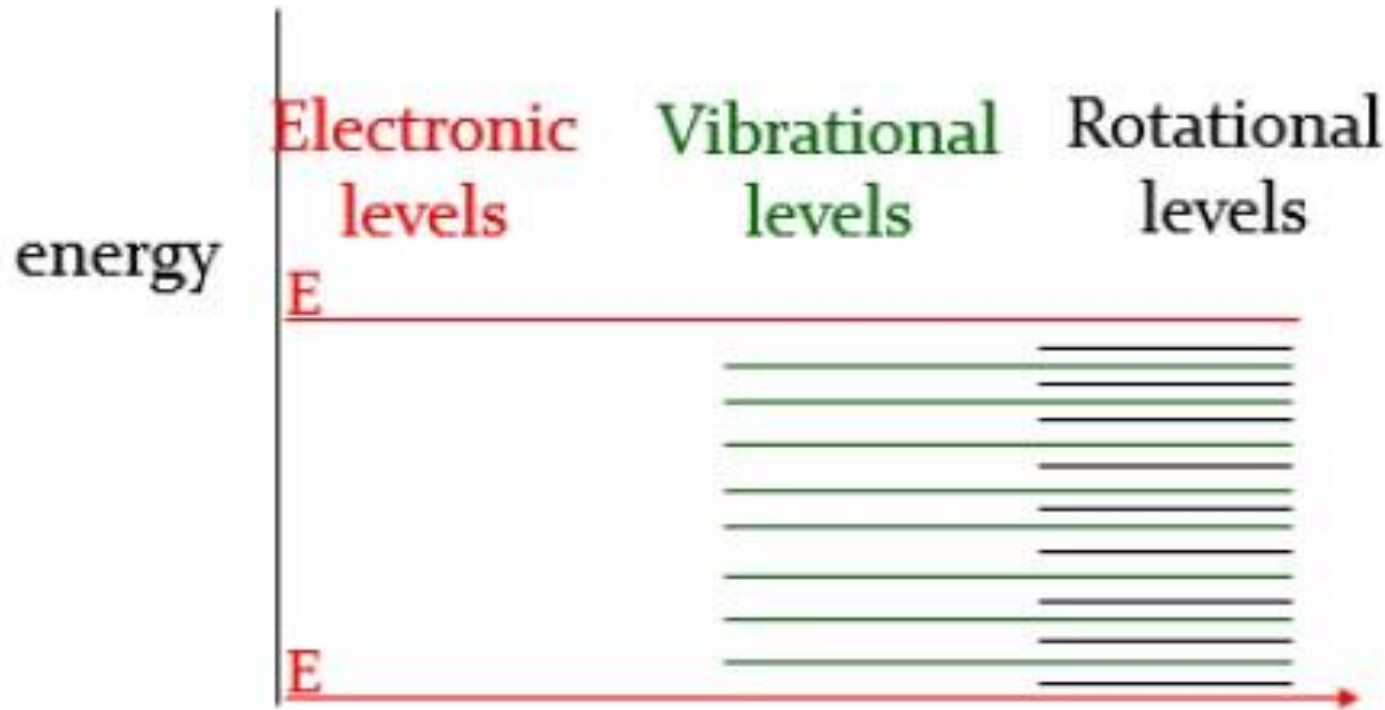
(3) طاقة دورانية E_r rotational Energy :

عائدة لدوران الجزيء حول محوره.

$$E_{Tot} = E_e + E_v + E_r$$

لكل جزيئة مجموعة من حالات الطاقة تسمى سويات الطاقة، وتقسم إلى:

Electronic, Vibrational, Rotational



Quantized levels in a two atomic molecule

○ نلاحظ من الشكل أنّ الفرق بين **مستويين إلكترونيين** (باللون الأحمر) كبير لذلك يتطلب الانتقال من مستوى إلكتروني أول إلى مستوى إلكتروني ثاني امتصاص كمية كبيرة من الطاقة (امتصاص أشعة غنية بالطاقة) مثل: UV و Vis .

○ أما إذا كان التغير في **الحركة الاهتزازية**، فنلاحظ أن المستويات الاهتزازية (باللون الأخضر) أقرب إلى بعضها أي كمية الطاقة التي يجب امتصاصها للانتقال بين هذين المستويين أقل.

○ بينما **بالنسبة للدورانية** (باللون الأسود) فهي قريبة جداً من بعضها البعض. لذلك تكون الطاقة التي يجب امتصاصها للانتقال بين المستويات الدورانية قليلة جداً.

بما أن الطاقة الممتصة كبيرة نسبياً بأطيف الـ UV و الـ Vis فهذا يعني أنها تسبب تغيراً في الحركات الالكترونية (تنقلات الكترونية) يرافقها حركات اهتزازية وحركات دورانية ذلك لأن طاقتها عالية .

علل : نسمي الامتصاص في المجالين UV و Vis بـ Electronic Spectroscopy ؟

○ وذلك لأن هذين المجالين هما الذين يسببان الانتقال الالكتروني فهما يمتلكان طاقة تمكنهما من تغيير مستوى طاقة الالكترونات .

توضيح: ماذا يعني Electron Spectroscopy ؟

□ يعني الطرق الطيفية التي تسبب انتقالات الكترونية وتكون في المجالين المرئي وفوق البنفسجي على الأقل لأن الانتقال يحتاج إلى طاقة كبيرة.

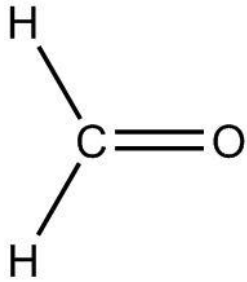
□ الامتصاص في المجال تحت الأحمر القريب (القريبة من مجال الأشعة المرئية أي أطوال الأمواج أقصر) تكفي طاقته ليسبب انتقالاً بين مستوي اهتزازي أول ومستوي اهتزازي ثانٍ وهو يسبب انتقالات دورانية أيضاً.

□ الامتصاص في المجال تحت الأحمر البعيد (البعيدة عن مجال الأشعة المرئية أي أطوال الأمواج الأكبر) طاقته صغيرة جداً وتكفي لانتقال صغير مثل الانتقال بين مستوى دوراني أول ومستوى دوراني ثانٍ.

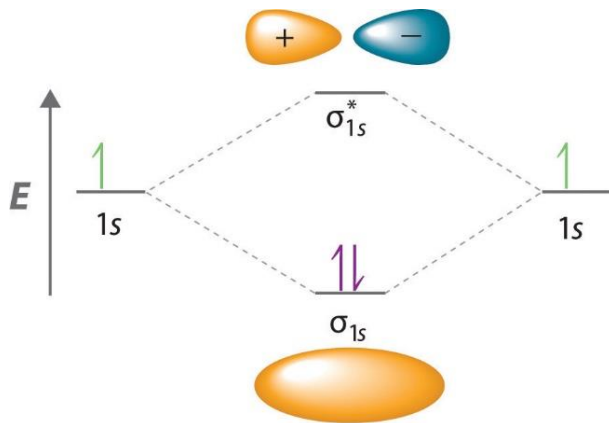
نوع الأشعة	طول الموجة	طبيعة الانتقالات التي تحدثها
اشعة غاما	$0.01\text{nm} >$	انتقالات نووية
أشعة X	$0.01 - 10\text{nm}$	انتقالات للإلكترونات الداخلية
UV البعيدة	$10- 200\text{nm}$	انتقالات للإلكترونات الخارجية
UV القريبة	$200 - 380\text{nm}$	
Visible	$380 - 780\text{ nm}$	
IR	$0.78- 4\text{ }\mu\text{m}$	تغيرات اهتزازية و دورانية للجزيء
Microwave	$0.04 -3\text{ cm}$	دوران جزيئي و مغزلي للإلكترونات
Radio wave	$3\text{cm}<$	تغيرات في الدوران المغزلي لنواة الذرة

الامتصاص في مجال الطيف المرئي و فوق البنفسجي

ما التغيرات التي تحدث عندما تمتص الجزيئة طاقة؟



مثلاً نأخذ جزيء الفورم ألدهيد



○ الرابطة الأحادية يرمز له σ

○ الرابطة الثنائية يرمز له π

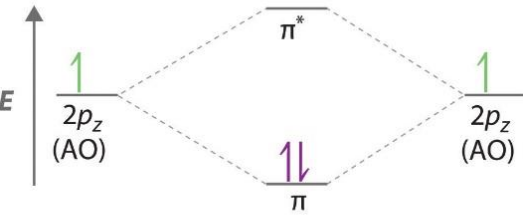
○ ذرة تحمل الكترونات حرة نرسم لها n

○ تنتقل الرابطة الأحادية σ إلى الرابط σ^* المهيج

عندما تمتص طاقة ($*$ تعني مدار مهيج).



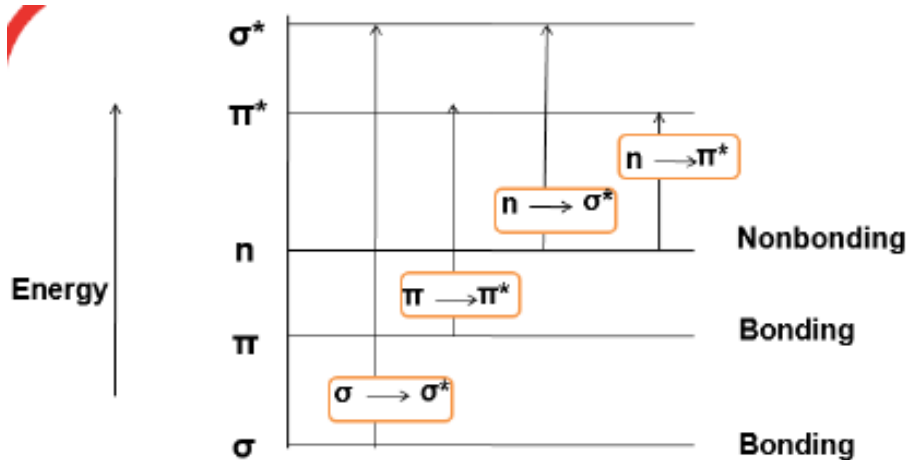
□ تنتقل الرابطة الثنائية π إلى المستوى الطاقى π^* المتهيج.



□ الإلكترونات الحرة تنتقل لأقرب مستوى طاقي:

- إذا كان يوجد رابطة ثنائية في الجزيء يكون الانتقال من نوع $n - \pi^*$

- أو يكون الانتقال من نوع $n - \sigma^*$ في حالة وجود رابطة أحادية



$$E_{\sigma\sigma^*} > E_{n\sigma^*} > E_{\pi\pi^*} > E_{n\pi^*}$$

إذا يوجد أربع أنواع من التنقلات التي تحدث عندما يمتص الجزيء طاقة و هي:



نلاحظ أن التنقل $\sigma\sigma^*$ يحتاج إلى أكبر كمية من الطاقة وكذلك الانتقال $n-\sigma^*$ يحتاج إلى طاقة عالية بينما الانتقالات من نوع $\pi-\pi^*$ و $n-\pi^*$ تحتاج إلى طاقة أقل .

ترتيب التنقلات حسب حاجتها للطاقة :

$$E_{\sigma\sigma^*} > E_{n\sigma^*} > E_{\pi\pi^*} > E_{n\pi^*}$$

الترتيب هام جداً

نوع التنقل	مجال طول الموجة نم	أمثلة
$\sigma\sigma^*$	$150 >$	C-C, C-H,
$n\sigma^*$	$150 - 260$	CH_3OH , CH_3Cl
$\pi\pi^*$	$180 - 500$	C=C, C=O, C=N
$n\pi^*$	$225 - 600$	C-O \cdot , C=N \cdot , N=N \cdot , $\cdot\text{N}=\text{O}$

إن الانتقال $\sigma - \sigma^*$ يحتاج لطاقة كبيرة أكبر من طاقة الأشعة المرئية و فوق البنفسجي لذلك لا نستطيع رؤية هذا التنقل نهائياً في مجال الـ UV فهو يحتاج لطاقة أعلى كطاقة أشعة غاما أو أشعة X .

بعض المركبات التي تحوي ذرة تحمل الكترونات حرة وبجانبها رابطة أحادية يُمكن أن تبدي امتصاصاً للضوء في المجال UV .

مثال توضيحي:

لدينا المركبات الهالوجينية المتشابهة التالية هي تبدي جميعها تنقلات من نوع $n\sigma^*$:

$$(1) \lambda_{\max} = 190 \quad \text{CH}_3 - \text{Cl}$$

$$(2) \lambda_{\max} = 205 \quad \text{CH}_3 - \text{Br}$$

$$(3) \lambda_{\max} = 258 \quad \text{CH}_3 - \text{I}$$

مثال هام جداً

علل أن المركبان (2) و (3) يمتصان الأشعة في مجال الـ UV بينما المركب (1) لا يمتص:

يعود ذلك إلى الوزن الجزيئي المرتفع لليود و البروم (نصف القطر يزداد)، حيث أن الإلكترونات السطحية بعيدة عن النواة و هي التي ستنتقل. لذلك لا تحتاج إلى طاقة كبيرة لتنتقل (أي طول موجتها مرتفع بينما ذرة الكلور صغيرة وزنها الجزيئي منخفض، فالإلكترونات السطحية فيها قريبة من النواة فتحتاج إلى طاقة أكبر لتنتقل (أي أطوال أمواج أقصر).

إن أحد الشروط الهامة حتى يكون للمركب انتقالات في مجال الـ UV هو أن يحتوي على رابطة مضاعفة أو على ذرة تحمل إلكترونات حرة (زوج الإلكترونات) وبجانبها رابطة مضاعفة.

أي أن التنتقات التي نراها بالامتصاص في مجال UV والمجال المرئي هي $(\pi^* - \pi)$ و $(n - \pi^*)$ وبعض تنقلات $(n - \sigma^*)$.

إن المركبات التي تحوي رابطة مضاعفة، والمركبات التي تحوي ذرة تحمل إلكترونات حرة و **بجانبها** رابطة مضاعفة وبعض المركبات التي تحوي ذرة تحمل إلكترونات حرة وبجانبها رابطة أحادية تمتص الضوء في المجال UV وندعوها **بالمجموعات المولدة للون chromophores** مثل : $(\ddot{S}, \ddot{O}, \ddot{n})$ (ليس بالضرورة أن تكون ملونة).

- المركب التالي: $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$. لا يمتص الضوء في مجال UV لأنه لا تحصل فيه تنقلات من الأنواع $(n\sigma^* - n\pi^* - \pi\pi^*)$
- بينما الأسيتون $(\text{CH}_3-\text{CO}-\text{CH}_3)$ يمكننا معايرته بطيف الـ UV لأنه يمتص الأشعة في مجال الـ UV فهو يحتوي رابطة مضاعفة كما أنه يحوي ذرة تحمل الكترونات حرة و بجانبها رابطة مضاعفة .

ملاحظة هامة :

الأسيتون يتعرض لتنقلات من نوع $(\pi\pi^*, n\pi^*)$ فلو رسمنا طيف الامتصاص للأسيتون (أي العلاقة بين امتصاص الضوء و طول الموجة المستعمل)، سيوضح الرسم البياني له أن التنقل الذي يحتاج طاقة أعلى سيستخدم طول الموجة الأقصر. عند دراسة الأسيتون نستخدم طول الموجة 230 و هي طول موجة الامتصاص الأعظمي للأسيتون كما أن الأسيتون لا يقاس في المجال المرئي لأنه غير ملون

مركب البنزين: $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$ فعند قياس امتصاصه في مجال الـ UV نجد في الرسم البياني قمة واحدة عائدة لتتقل ($\pi\pi^*$) .

إذاً :

○ شرط امتصاص المادة للضوء في المجال UV أن تحوي المادة مجموعة

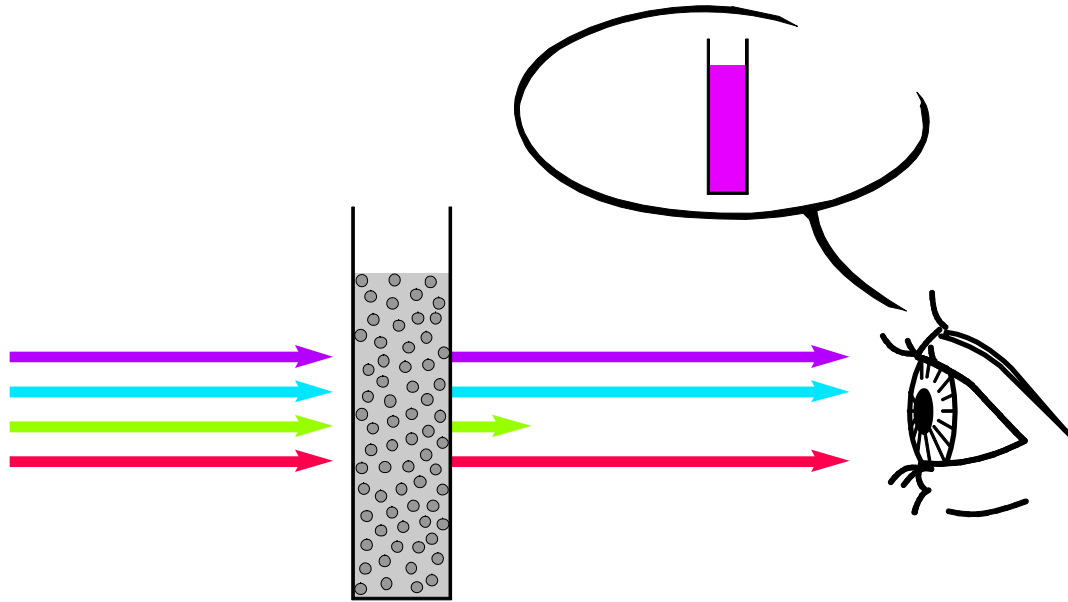
Chromophores

○ وشرط امتصاص المادة للضوء في المجال المرئي أن تحوي المادة مجموعة

Chromophores و أن تكون المادة ملونة .

How we see colors ?

كيف نرى الألوان ؟



- يتكون اللون الأبيض من مجموع الأشعة المرئية كلها

- لدى مرور هذه الأشعة خلال جسم ملون يمتص جزءاً من هذه الأشعة

- وترى العين الأشعة التي لم يمتصها الجسم (الطيف الذي عبر الجسم الملون)

كيف نرى المادة ملونة؟

نعلم أن الضوء الأبيض هو مجموع سبعة ألوان (ألوان الطيف)، عند سقوط الضوء على مادة معينة فإنها ستمتص **أحد ألوان** الطيف السبعة، والألوان الستة الباقية لن تمتصها، ويكون **اللون الناتج عن مجموع ألوان الطيف الستة غير الممتصة** هو **اللون الذي نراه للمادة**، فمثلاً: محلول كبريتات النحاس لونه أزرق، كبريتات النحاس تمتص اللون الأصفر ويكون مجموع الألوان الباقية غير الممتصة أزرق، ندعو اللون الأزرق والأصفر: لون المادة **Color** واللون المتمم **Complementary Color** أي أن الأصفر هو اللون الناقص من ألوان الطيف لكي تكتمل الألوان لتعطي اللون لأبيض.

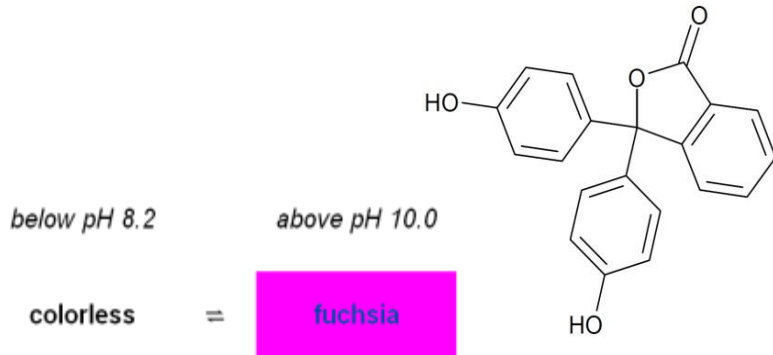
Wavelength absorbed (A)	Color observed (transmitted)
4000 (violet)	Greenish yellow
2450 (dark blue)	Yellow
4500 (blue)	Orange
4900 (blue –green)	Red
5100 (green)	purple
5300 (yellow-green)	Violet
5500 (yellow)	Dark blue
5900 (orange)	Blue
6400 (red)	Bluish green
7300 (purple)	Green

وكل مادة تمتص اللون المتم لها، فعندما نريد دراستها على جهاز الـ Spectrophotometer فحسب لون الضوء المتم لها:

○ مادة خضراء تمتص الأحمر، مادة بنفسجية تمتص الأخضر المزرق لذلك لقياسها نمرر ضوء أخضر مزرق طول موجته 510 - 525 ، مادة لونها أصفر مخضر تمتص البنفسجي نمرر ضوء طول موجته 400... الخ، ويجب ألا ننسى أن طول موجة الضوء البنفسجي أصغر بكثير من طول موجة الضوء الأحمر، وتتزايد أطوال الأمواج من البنفسجي إلى الأحمر.

○ هناك مواد ملونة بطبيعتها مثل: (اليود: بني، كبريتات النحاس: أزرق، برمنغنات البوتاسيوم: بنفسجي) فبإمكاننا معايرتها مباشرة باستخدام جهاز Spectrophotometer، أما المواد التي لا لون لها يمكن تحويلها إلى ملونة،

فمثلاً:



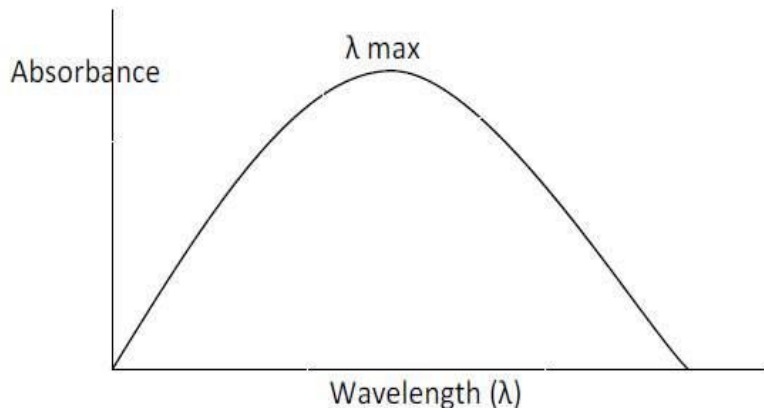
الفينول فتالئين غير ملون أضفنا له الصود (وهو مادة قلوية) فأصبح زهري اللون.

ولكن يوجد مواد شفافة/ عديمة اللون (أي لاتحوي مجموعات مولدة للون مثل الغلوكوز) لذلك من أجل معايرتها نضيف لها **كواشف تشكل معها معقدات ملونة**، فمثلاً: لمعايرة الغلوكوز نضيف له كاشف يشكل معه معقد لونه أحمر، **وتزداد شدة لون المعقد بازدياد تركيز (شوارد) المادة (الغلوكوز)** حيث تعبر شدة اللون عن التركيز. من طرق المعايرة المستخدمة بكل المخابر أنه يتم إحضار الكيت وهي علبة تحوي بداخلها عبوتين: عبوة غلوكوز عياري (معلوم التركيز) و عبوة تحوي كاشف مناسب يعطي لوناً عند إضافة الغلوكوز معه

يرد في الامتحان **سؤال هام** : تأتي صيغة مركب و نسأل عن أي مجال يستطيع امتصاص الضوء فيه؟ أو هل المركب قابل للمعايرة بالطرق الطيفية ؟ كما يمكن أن يأتي رسم بياني لمركب نحدد عليه القمم لأي تنقل تعود .

طول موجة الامتصاص الأعظمي λ_{\max} :

بدايةً، يجب أن نعرف أن طول موجة الامتصاص الأعظمي λ_{\max} هي **القيمة التي تستطيع عندها المادة أن تبدي أفضل امتصاص**، لأن الامتصاص يختلف من مركب لآخر حسب تركيز لونه (لون فاتح-غامق)، فمثلاً إذا كانت المادة حمراء نعلم أنها ستبدي امتصاصاً في مجال طول الموجة 450-550 ، فنقوم **بمسح طيفي** أي قياس الامتصاص بأطوال أمواج مختلفة ضمن هذا المجال لمعرفة λ_{\max} ، وعندما نجد طول الموجة الذي يحصل عندها أفضل امتصاص (هي في مثالنا 530) نكمل عملنا عليها لحساب التركيز.



سؤال:

ما الفائدة من اختيار طول الموجة λ_{\max} الذي يبدي أفضل امتصاص ؟

1. **تخفيف الأخطاء وإلغاء التداخلات:** λ_{\max} نوعية للمادة المدروسة، فإذا وجدت مواد أخرى في الوسط تمتص الضوء في هذا المجال لن يكون امتصاصها للضوء عند طول الموجة λ_{\max} كامتصاص المادة المدروسة، أي أننا **ألغينا تأثير بقية المواد** على الامتصاص وبقي تأثير المادة المدروسة فقط.
2. **رفع انتقائية أو حساسية الطريقة:** عند طول الموجة λ_{\max} تبدي المادة أفضل امتصاص، أي أننا لو استخدمنا أقل كمية ممكنة من المادة فستبدي المادة امتصاصاً للضوء.

العوامل المؤثرة على طيف الامتصاص :

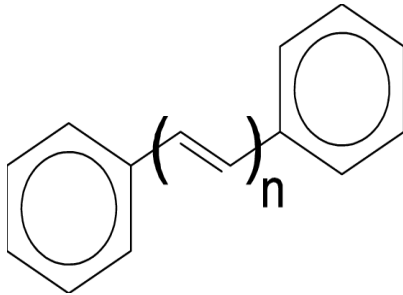
لا يعتمد طول موجة الامتصاص الأعظمي على المجموعة الوظيفية فقط وإنما على البيئة حيث يتأثر بعدة متغيرات:

مثلا: وجود الروابط المضاعفة المتناوبة (أنظمة الترافق) يؤدي إلى انزياح الامتصاص باتجاه أطوال الأمواج الأعلى.

متغيرات داخلية :

البنية الكيميائية :

مثلاً:



□ في مركب *Diphenyl polyene* حسب عدد الروابط

المضاعفة الموجودة حوله يمتص الضوء، فإذا كان يملك

رابطة مضاعفة واحدة أو اثنتين يمتص الضوء في مجال ال UV من 200

إلى 400 أما إذا أصبح العدد 3 روابط انزاح الامتصاص باتجاه أطوال

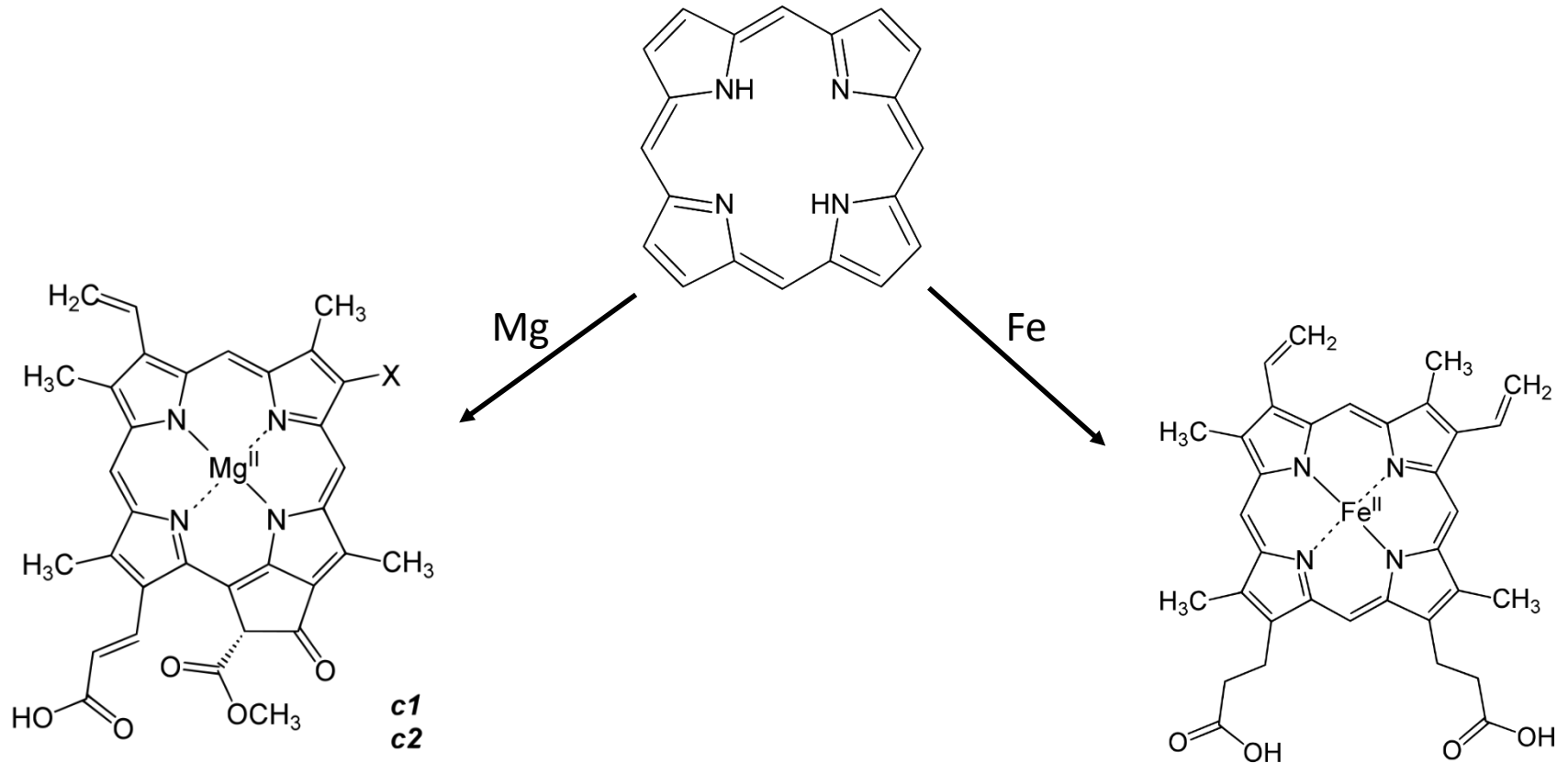
الأمواج المرئية فيكون الامتصاص للضوء الأصفر الفاتح، وإذا ازداد العدد إلى

15N ينزاح إلى اللون الأخضر المسود حيث أطوال الأمواج أكبر.

وهذا يعني أن ازدياد الروابط المضاعفة المتناوبة (أنظمة الترافق) يؤدي إلى

انزياح الامتصاص باتجاه أطوال الأمواج الأكبر.

□ نواة البورفيرين Porphin (تحتوي أربع نوى عطرية) عند ربطها مع شاردة الحديد ينتج لدينا معقد لونه أحمر هو الهيموغلوبين Haemoglobin، أما عند ربط نواة البورفيرين نفسها مع شاردة المغنيزيوم فنحصل على لون أخضر والمركب هو اليخضور Chlorophyll.



متغيرات خارجية :

هناك عوامل خارجية تؤثر على طول موجة الامتصاص لذلك يجب تثبيتها، ألا وهي:



حيث يمكن للمركب أن يمتص طول موجة محددة في محل معين بينما إذا غيرنا المحل فسيتغير طول الموجة الممتصة.

شروط المحل المستخدم :

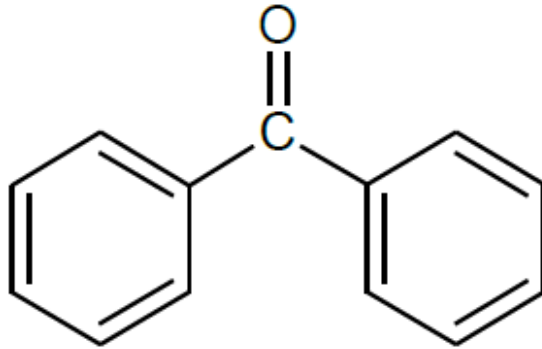
- 1) ألا يكون طيف امتصاصه في مجال الموجة المستخدمة.
 - 2) أن تكون نقاوته عالية وأن يحل المادة بشكل جيد.
 - 3) ألا يتفاعل مع المادة المراد معايرتها (لا يعطي نواتج ثانوية تؤثر على التفاعل).
 - 4) تأثير قطبية المحل:
- يجب أن أستخدم نفس المحل لأن المحل يغير من طيف الامتصاص ⇨ بالتالي يغير من طول موجة الامتصاص الأعظمي ⇨ فيغير في الروابط ⇨ وبالتالي يغير من التنقلات.

حيث:

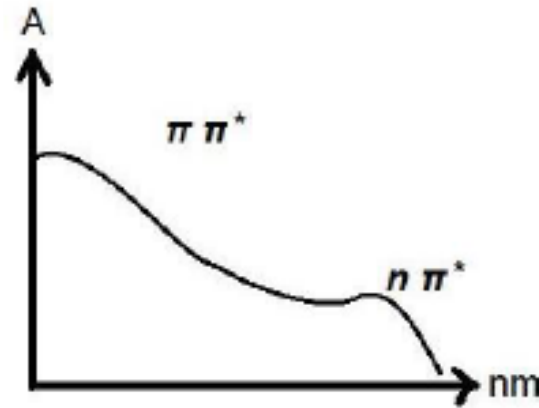
الانتقال $\pi\pi^*$ يحتاج طاقة أعلى من الانتقال πn بينما الانتقال πn يملك طول موجة أعلى من الانتقال $\pi\pi^*$.

مثال :

إذا استخدمنا محل قطبي مثل السيكلوهكسان والمادة كانت البنزوفينول فيكون شكل طيف الامتصاص (الذي هو تغير الامتصاص بتغير طول الموجة) عندها كالتالي:



البنزوفينون

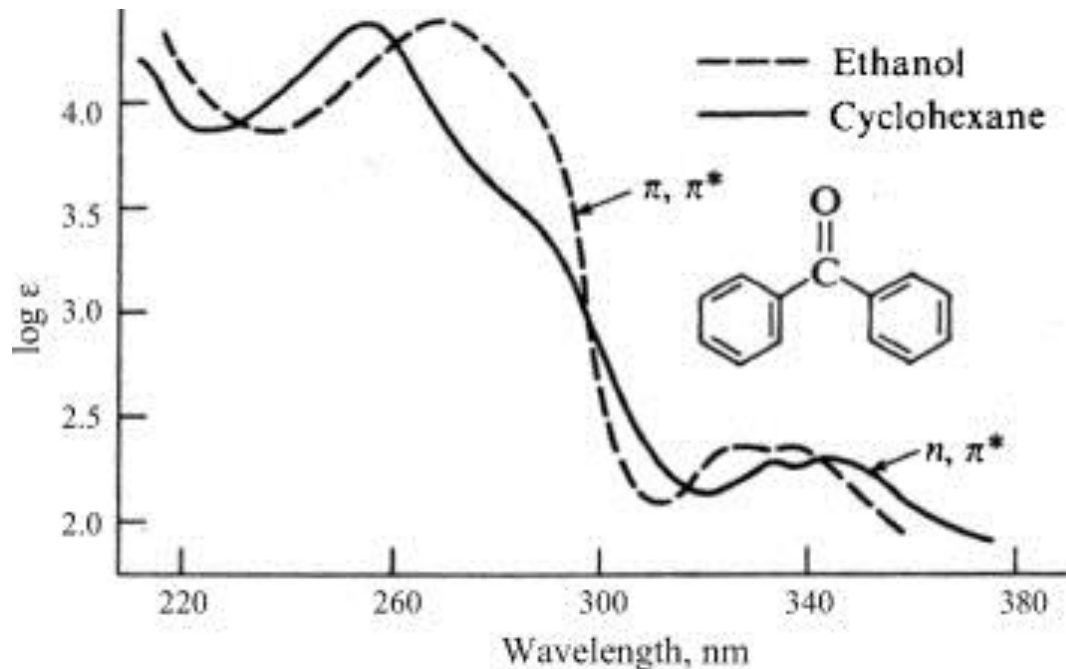


أنواع التنقلات في البنزوفينول : $(n\pi^* - \pi\pi^*)$.

في حال استبدالنا السيكلوهكسان (قطبي ضعيف) بالميتانول (قطبي بشكل أعلى من السيكلوهكسان) يصبح طيف الامتصاص بالشكل التالي:

تنقل ($\pi\pi^*$) يصبح باتجاه أطوال الأمواج الأعلى (طاقة أخفض).

تنقل ($n\pi^*$) يصبح باتجاه أطوال الأمواج الأخفض (طاقة أعلى).



تفسير ذلك :

ارتباط الالكترونات الحرة الموجودة على الأوكسجين في المركب بالمحل القطبي يجعل انتقالها أصعب وبالتالي سيحتاج لطاقة أعلى (أي طول موجة أقل)، انخفض طول الموجة وذلك بالنسبة للانتقال $n\pi^*$.

في الانتقال $\pi\pi^*$: π^* المهيج (طاقته عالية) وهو الذي يرتبط بالمحل القطبي وارتباطه به هذا يؤدي لخفض طاقته (طول موجة أعلى).

الخلاصة:

إذا كان المحل قطبي تنزاح التقلات ($\pi\pi^*$) باتجاه أطوال الأمواج الأعلى، في حين تنزاح تقلات ($n\pi^*$) باتجاه أطوال الأمواج الاخفض .

تأثير الـ pH : تؤثر درجة الـ pH في القدرة المعطاة أو المكتسبة للإلكترونات لبعض الوظائف:

إن الـ pH يؤثر على تشتت المادة وبالتالي يؤثر على الامتصاصية من خلال تأثيره على نوع الانتقال وبالتالي يغير من طول الموجة.

مثال: مركب الفينول:



يعطي الفينول في الوسط الحمضي موجة امتصاص أعظمي عند طول الموجة $\lambda_{\max} = 270\text{nm}$ في الوسط القلوي يتشرد الفينول وتتشكل الفينات ويصبح طول الموجة $\lambda_{\max} = 286\text{nm}$ الأعظمي. ما هو السبب؟.. الترافق!

2 . درجة الحرارة :

تلعب درجة الحرارة (الطاقة الحرارية) دوراً كبيراً في الامتصاص وخاصة في حالة الاشتقاق (أي مادة غير ملونة أصبحت ملونة)، حيث تؤثر على طيف الامتصاص، لذلك يفضل في المخبر قراءة السلسلة العيارية والمجهول بنفس درجة الحرارة.

3 . الزمن :

يجب تحضير السلسلة العيارية والمجهول بنفس الوقت لأن أي تفاعل حتى يتطور يحتاج إلى وقت و بالتالي التفاعلين حينها سيكونان بنفس السرعة وعندما أقرأ الامتصاص يكون بنفس النسبة لكل من السلسلة و المجهول .

❖ قانون لامبير:

عندما يجتاز شعاع ضوئي وحيد اللون شدته I سمكاً معيناً في وسط من محلول متجانس لمادة لها خواص ضوئية (قدرة على امتصاص الضوء) بتركيز Mol/L فإن جزءاً من هذه الحزمة يُمتص من قبل هذا الوسط ويكون هذا الامتصاص متناسباً طردياً مع سماكة الطبقة التي يعبرها الضوء.



I : شدة الضوء الوارد .

$$\frac{dI}{dL} = -KI$$

L : سماكة الوسط

K : عامل الامتصاص Absorption Coefficient

$$\frac{dI}{I} = K \cdot dL$$

تتعلق قيمته بالمادة والشروط المحيطة .

dL : مقدار التناقص في الشدة الضوئية .

$$\int_{I_o}^I \frac{dI}{I} = - \int_0^L K \cdot dL$$

بأخذ تكامل الطرفين :

$$\ln \frac{I}{I_o} = -K \cdot L$$

لنتخلص من إشارة (-) نقلب الكسر $\frac{I}{I_o}$:

$$\ln \frac{I_o}{I} = K \cdot L$$

I_o : شدة الحزمة الضوئية الساقطة

I : شدة الضوء النافذ بعد اختراقه للسماك L

$$2.303 \log \frac{I_o}{I} = KL$$

حولنا من لوغاريتمي عشري :

$$\log \frac{I_o}{I} = \epsilon L$$

I_o : الضوء النافذ.

I : الضوء الوارد .

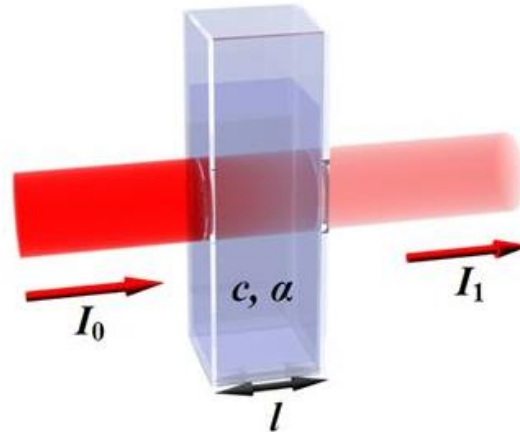
ϵ : (أوبسيلون) هي عامل الإنطفاء Extinction Coefficient وتساوي $\frac{k}{2.303}$

قانون بيير :

في السوائل و الاجسام الصلبة تكون عوامل الإنطفاء و الامتصاص ثابتة، أما في المحاليل فهناك عامل آخر يؤثر على الامتصاص هو التركيز ((تأثير عدد جزيئات المادة، حيث يزداد الامتصاص بازدياد التركيز)) ، فاستنتج بيير قانون:

$$DO = A = \text{Log} \frac{I_0}{I} = \epsilon C$$

حيث C: التركيز.



ويجمع القانونين ينتج قانون لامبير - بيير التالي:

$$DO = A = \text{Log} \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot L \cdot C$$

حيث :

ε : عامل الإنطفاء (يتعلق بطبيعة المادة ونوع المحل و درجة الحرارة).

L : سماكة المحفد وهي غالباً 1cm .

C : التركيز.

عامل الإنطفاء الجزيئي **Molecular**: إذا كان التركيز mol/l .

عامل الإنطفاء النوعي **specific** : إذا كان التركيز g/100ml .

ملاحظة:

نسمي $\log \frac{I_0}{I}$ بالامتصاص الضوئي (Optical Absorption) ونرمز له بالرمز **A**
أو نسميه الكثافة الضوئية (Optical Density) ونرمز له بالرمز **D_o** .

تذكرة:

للتحويل من إلى $g/100ml$: إلى mol/l :

مثلاً: لدينا التركيز $5 g/100ml$ نحولها إلى اللتر فتصبح $50 g/1000ml$
ثم نقسم على الوزن الجزيئي لحساب عدد المولات.

النفاذ/ النفاذية: Transmittance

إن جهاز الـ Spectrophotometer الذي نستخدمه في المختبر يقيس النفاذ بالإضافة لقياسه الامتصاص و يعرف النفاذ بأنه: **النسبة المئوية** للضوء النافذ على الضوء الوارد (يعبر عن الضوء النافذ كنسبة مئوية) و يرمز له بـ T .
العلاقة بين النفاذ والامتصاص هي علاقة عكسية ولوغاريتمية:

$$\text{Log } \frac{I_0}{I} = - \log T = \varepsilon . L . C$$

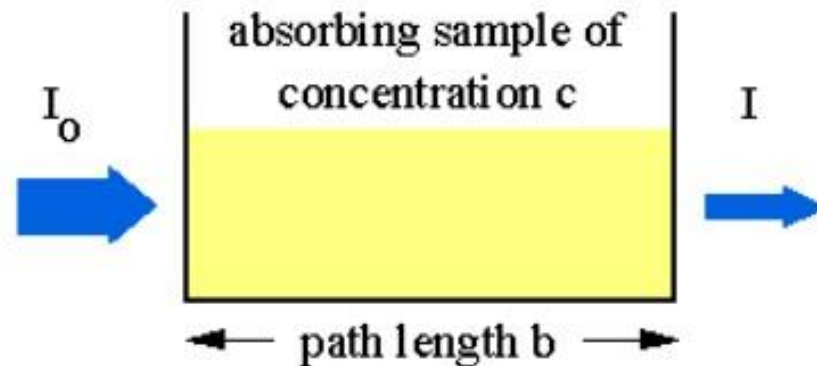
Transmittance is given by the equation:

$$T = I/I_0$$

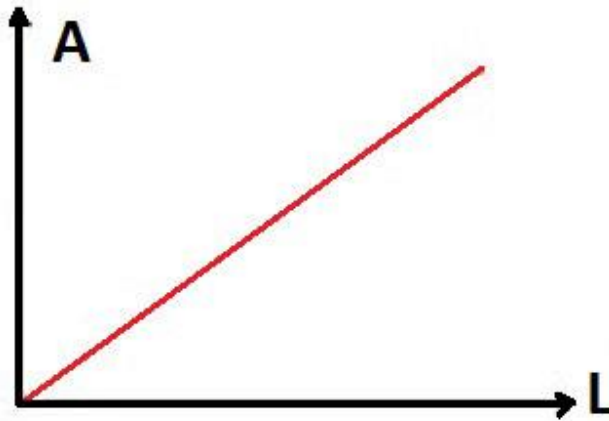
where I is the intensity of the light after it has gone through the sample & I_0 is the initial light intensity.

Absorbance is related to the %T:

$$A = -\log T = -\log(I/I_0)$$



إن قانون لامبير المتعلق بسماكة المحفد **قابل للتطبيق دوماً** (أي أن العلاقة خطية بشكل دائم)، بينما **بيير لا يبقى كعلاقة خطية في حالة التراكيز العالية** فهو خطي لحدود معينة حتى التركيز 10^{-2}mol/l (عندما تصبح التراكيز أعلى منه تصبح الألوان غير متدرجة لذلك نلجأ للتمديد).



Lamber Law Applies Always



Beer's Law

تطبيقات قانون لامبير - بيير

1- قياس تركيز المجهول بالطريقة العيانية المباشرة:

نشكل سلسلة عيارية ونقارن المجهول بها ونأخذ أقرب أنابيب السلسلة لوناً إلى أنبوب المجهول (درجته أعلى من درجة لون المجهول) ونمدده حتى يتطابق اللونان ونستفيد من تركيز المعلوم في حساب تركيز المجهول (طريقة مستخدمة جداً في معامل التغذية عندما تكون الدقة العالية غير مطلوبة).

2- جهاز لون دويوسك:

نغير فيه L (سماكة السائل أو المحلول) حتى نحصل على الساحة المجهرية مضاءة فيصبح:

امتصاص المجهول = امتصاص المعلوم أي

$$\varepsilon.L_I.C_I = \varepsilon.L_2.C_2$$

ε تتعلق بطبيعة المادة والمادة نفسها، فتصبح العلاقة

$$L_I.C_I = L_2.C_2$$

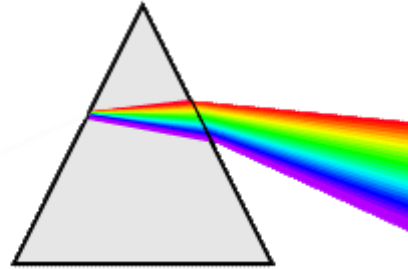
قيم L_I و L_2 معلومتان من الجهاز، نحسب تركيز المجهول من العلاقة

$$\frac{C_1}{C_2} = \frac{L_2}{L_1}$$

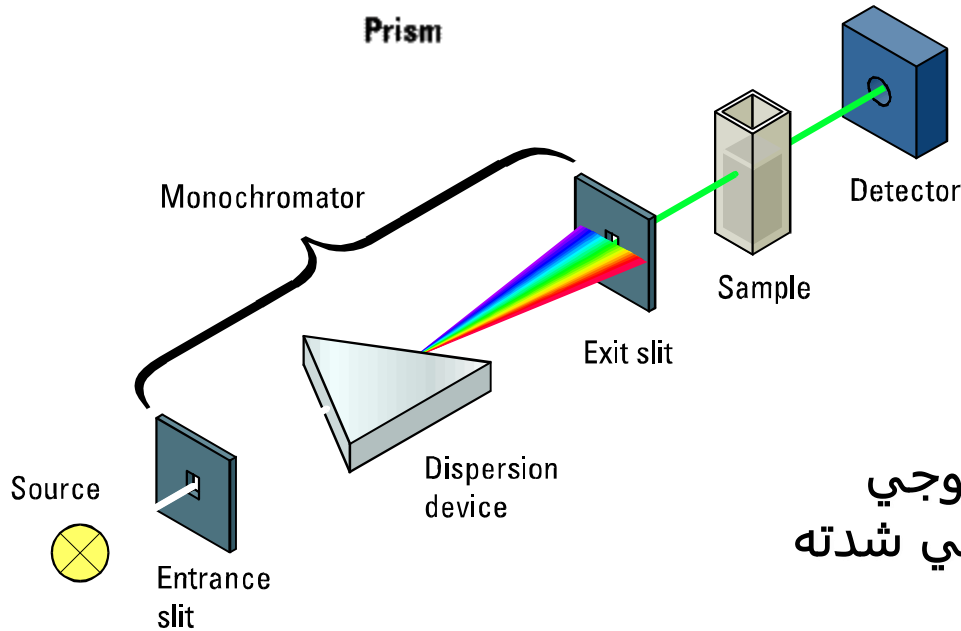
مبدأ عمل مطيافية الأشعة ما فوق البنفسجية و الضوء المرئي

Principle of UV-Visible spectroscopy

- يقوم الجهاز بفصل الضوء إلى أطوال موجية مختلفة باستخدام الموشور



Prism



- ثم يقوم بتمرير شعاع ذو طول موجي وحيد على العينة وقياس التغير في شدته

3- مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer :

ماذا تتضمن الأجهزة المستخدمة في تطبيق قانون لامبير-بيير؟

1- المنبع الضوئي: - **في المجال المرئي:** مصابيح سلك التنغستين أو مصباح هالوجيني.

- **في مجال فوق البنفسجية:** مصباح الهيدروجين أو الديتيريوم

2- **مستفرد اللون:** ليعطي ضوء وحيد اللون، قد يكون شبكات معدنية أو مراشح معدنية أو مواشير.

3- **المحafd:** - **في المجال المرئي:** وعاء مصنوع من الزجاج

- **في مجال فوق البنفسجية:** أوعية مصنوعة من الكوارتز أو السيليكا المصهورة (لأن الزجاج يمتص الأشعة فوق البنفسجية)

3- مستقبل الإشارة (متحريات، كاشف): أداة لتحديد كمية الضوء الممتص وهي تحول الاستجابة إلى إشارة مقروءة ويوجد أنواع عديدة من هذه المتحريات. بعد أن تمتص المادة جزء من الضوء وينفذ جزء آخر يمر عبر خلية كهروضوئية تحول الضوء الى تيار كهربائي، وفي النهاية يظهر لدينا على الشاشة قراءة مقدار الامتصاص أو النفاذ.

يوجد لدينا نوعين من مستقبل الإشارة:

○ أحادي الحزمة One Beam:

نضع الشاهد ثم نضع العينة كالذي نستخدمه في مخبر العملي.

○ ثنائي الحزمة Double Beam :

له حجرتين: الأولى تحوي الشاهد والثانية تحوي العينة و يعطي الجهاز الامتصاص مباشرة.

○ إذا كان الناحب للون (طول الموجة) شبكة معدنية او مؤشر يُسمى الجهاز

Spectrophotometer

○ أما إذا كان مستفرد اللون مرشحة يُسمى الجهاز مقياس الضوء Photometer

وتكون المراشح ذات ألوان عديدة (خضراء وحمراء ...) نستخدم المرشحة التي

تناسب طول الموجة المرغوب، ويختلفان عن بعضهما بـ:

يقيس الضوء في المجال المرئي فقط (المحالي

الملونة). **Photometer** (مقياس الضوء):

Spectrophotometer : يقيس في المجال المرئي وفوق البنفسجي.

تطبيقات قياس الامتصاص في مجال UV والمجال المرئي في الصيدلة:

1- التحاليل الكيفية:

يمكن أن تفيدنا في **معرفة هوية المادة** وذلك في حالة تطبيقات أطياف الامتصاص في مجال UV و المرئي، إلا أن هذه التطبيقات قليلة جداً لأنها ليست نوعية، فهي تعطي انطباع عام عن المركب لكنها **لا تفيد في معرفة بنيته**، وذلك لان الأمواج الـ UV والمرئي **تمتلك طاقة عالية فتسبب انتقالات الكترونية في مستويات الطاقة الثلاث للجزيء (الالكترونية، الاهتزازية، الدورانية)**، فنتج لدينا أطياف معقدة ولا نستطيع تمييز وظيفة عن أخرى، وبالتالي المجالان المرئي والـ UV لا يقدمان خدمات في مجال معرفة بنية المادة، على عكس مجال الـ IR الذي يقدم ذلك **لأن الاهتزاز فيه يعود لكل وظيفة بشكل مختلف عن الآخر حيث أنه يسبب تغيراً في الحركة الاهتزازية والدورانية أو الدورانية فقط.**

مثلاً: اهتزاز CO_2 يختلف عن اهتزاز الـ OH والذي بدوره يختلف عن الرابطة المضاعفة وهكذا ... وبالتالي اختلاف الاهتزاز يعطي أطيف مختلفة عن بعضها البعض، فالحركة نوعية مما يفيدنا في معرفة بنية المواد.

يمكن أن اعرف من خلال المجالين المرئي والـ UV هوية المادة فقط بالاعتماد على طيف الامتصاص لكن دون معرفة بنيتها الكيميائية

توضيح:

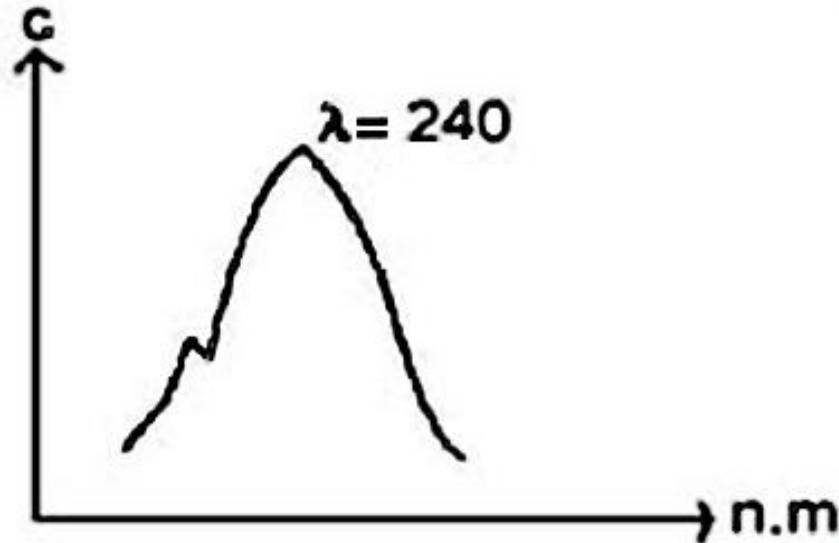
قياس الامتصاص في مجال UV والمجال المرئي يمكننا من **تحديد هوية المادة** حيث نقارن الطيف المجهول مع أطيف الامتصاص المرجعية وأطوال الأمواج الأعظمية للمادة.

فمثلاً:

لدينا مركب الفينوبارييتال يكون له طيف امتصاص مع محل معين كما في الشكل :

مع طول موجة أعظمية : $\lambda_{\max} = 240$

نقارنه مع أطياف الامتصاص المرجعية وأطوال الأمواج الأعظمية ومن خلال ذلك أستطيع معرفة هوية المركب.



2- التحاليل الكمية:

الامتصاص في مجال الـ UV والمجال المرئي يملك تطبيقات واسعة في مجال التحاليل الكمية وتعتمد على:

جهاز السبيكتروفوتومتر وقانون لامبير بيير

معظم التحاليل الفيزيولوجية مثل (الشحوم، الكوليسترول، البولة، حمض البول، السكر الغلوكوز، الفيتامينات، الكرياتينين، الكربوهيدرات) تتم باستخدام السبيكتروفوتومتر كما وتتم معايرة الكثير من المواد الدوائية والعديد من المركبات في مجال الأغذية.

من أهم هذه التطبيقات: 1- حساب التركيز لعينة مجهولة التركيز.

2- مقارنة التفاعلات اللونية.

3- حساب الـ Pka للأدوية.

أولاً: حساب التركيز:

(1) في حال **عامل الإنطفاء معلوم مرجعياً** يمكن حساب التركيز مباشرة باستخدام القانون :

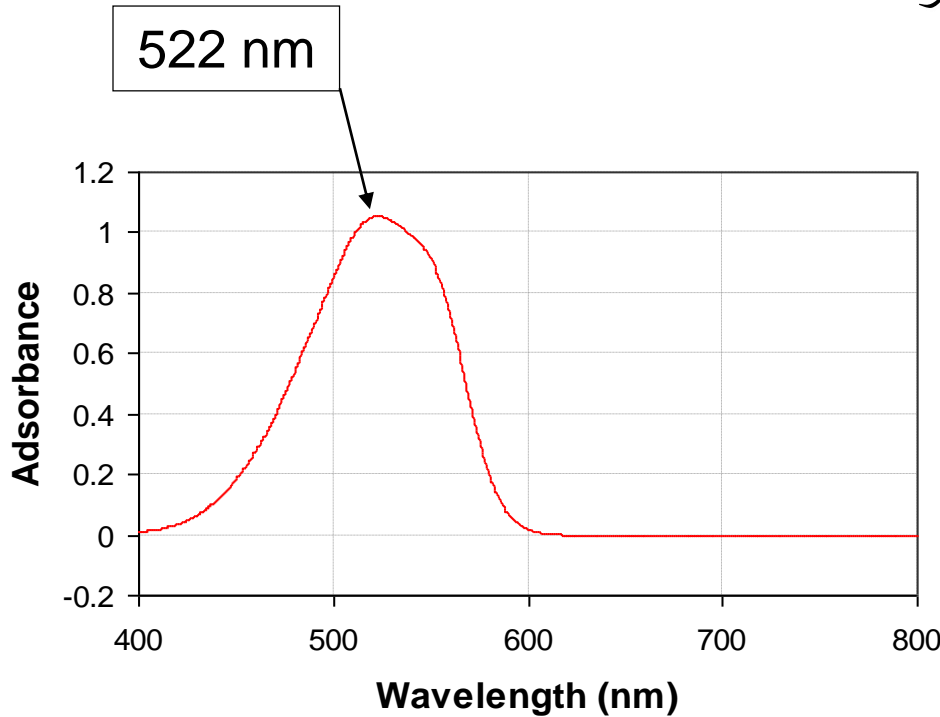
$$A = \varepsilon \cdot L \cdot C$$

(2) في حال كان **عامل الإنطفاء مجهول** نقوم بتحضير سلسلة عيارية تحوي نفس مادة المجهول بتركيزات مختلفة، ثم نقرأ الامتصاص على الجهاز ثم نرسم الخط البياني الذي يمثل علاقة الامتصاص بالتركيز (ويجب أن يبدأ الخط البياني من الصفر لأنه عندما لا يوجد تركيز للمادة المدروسة لا يوجد امتصاص لأن العلاقة خطية) ومن ثم نستطيع معرفة تركيز المجهول من خلال الخط البياني.

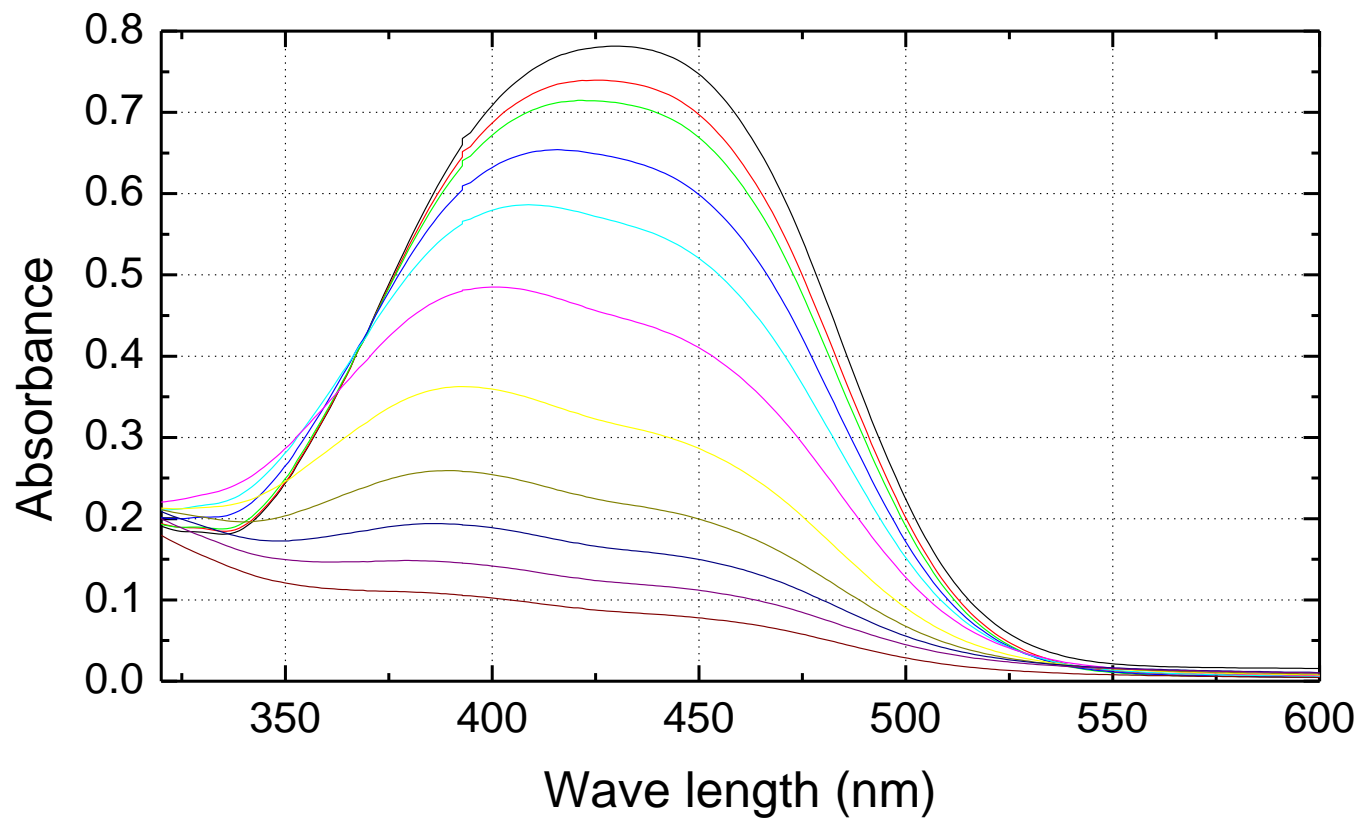
(3) بوجود مادة عيارية وهي الطريقة المتبعة **بمخابر التحليل**:

حيث يؤخذ عياري واحد موضوع ضمن علبة نحصل عليها من الشركات المصنعة وبجانبه عبوة الكاشف التي تتفاعل مع المجهول وتعطي معقد ملون.

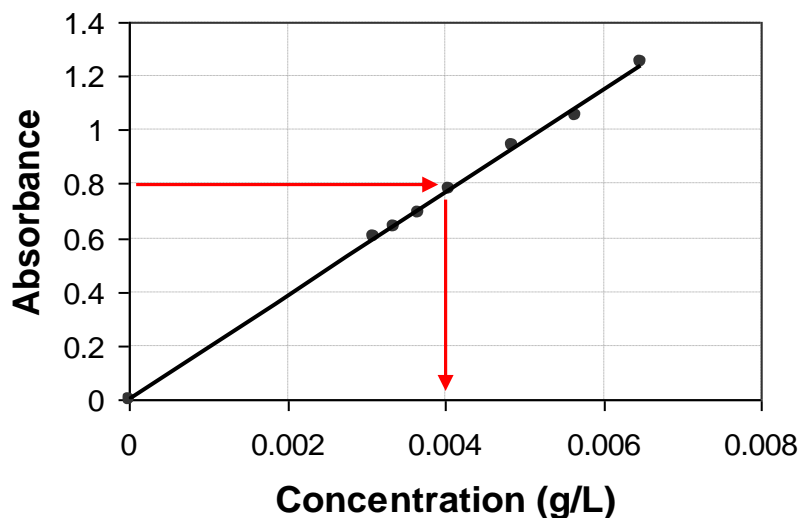
مثال على استخدام مطيافية الأشعة مافوق البنفسجية و الضوء المرئي



- لدى قياس الامتصاصية لعينة ذات لون أحمر باستخدام جهاز المطيافية على كامل مجال الأطوال الموجية
- يظهر لدينا المنحني التالي :
- يرسم فيه الامتصاصية الضوئية بالنسبة للأطوال الموجية المختلفة
- حيث تظهر العينة امتصاصية عظمى لدى الطول الموجي 522 نانوميتر



مثال على استخدام مطيافية الأشعة ما فوق البنفسجية و الضوء المرئي



- نقوم بعد ذلك برسم منحنى المعايرة
- حيث نقيس الامتصاصية عند الطول الموجي الاعظمي (522) لعدة تراكيز معلومة من المادة.
- وباستخدام هذا المستقيم و بالإسقاط عليه يمكن حساب تركيز عينات مجهولة لدى معرفة امتصاصيتها

مثال:

إذا كنا نريد أن نعاير 10 عينات من الغلوكوز في الدم نضع عينات الدم في المثقلة
لنأخذ منها المصل.

ثم نأخذ عشرة أنابيب ونضع في كل أنبوب 1 مل من المصل ثم نضيف على كل
أنبوب 1 مل من كاشف الغلوكوز الذي يشكل معقد يعطي الانابيب اللون الأحمر ولكن
بدرجات مختلفة حسب تركيز الغلوكوز.

نقرأ الامتصاص للغلوكوز العياري ثم نقرأ الامتصاص للعينات العشرة ثم نطبق القانون:

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{C_1}{C_2}$$

تركيز المادة العيارية وهي معلومة أيضا بالنسبة لنا

امتصاص المادة العياري وهو معلوم بالنسبة لنا

تركيز المادة المجهول وهو الذي نريد ان نحصل عليه

امتصاص المادة المجهول وهنا عينات الغلوكوز التي قسناها بالجهاز

توضيح: عياري $A_1 = \varepsilon_1 \cdot L_1 \cdot C_1$

مجهول $A_2 = \varepsilon_2 \cdot L_2 \cdot C_2$

ε عياري يساوي ε مجهول لأنه نفس التفاعل ونفس الشروط.

$L_1 = L_2$ نفس المحافد.

تطبيق: امتصاص عينة غلوكوز عند مريض $A_2 = 0.86$ وامتصاص العياري A_1

$C_1 = 100 \text{ mg/DL}$ تركيزه $= 0.43$

الحل:

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{C_1}{C_2}$$

$$\frac{0.43}{0.86} = \frac{100}{C_2} \Rightarrow C_2 = \frac{0.86 \times 100}{0.43} = 200 \text{ mg/dL}$$

سكر المريض مرتفع (السكر الطبيعي 80 - 110)

1) عدم وجود مادة عيارية:

إذا لم نستطع الحصول على المادة العيارية بسبب تكلفتها المرتفعة يمكن أن نحصل على الامتصاص من دستور الأدوية فيعبر عن الامتصاص ثابتة تذكر في

$$A\%_{1\text{cm}} = 520$$

دستور الأدوية بهذه الطريقة
فهي الامتصاص المئوي تعبر عن امتصاص المحلول العياري بتركيز g/100ml
(دائماً يكون تركيز العياري g/100ml)

تطبيق:

الامتصاص المئوي للكلورامفينيكول يساوي $A_1 = 730$ ما هو تركيز الكلورامفينيكول في العينة، علماً بأن امتصاصها المقاس على الجهاز $A_2 = 0.73$
(الامتصاص المئوي عبارة عن الامتصاص مضافاً لها قيمة عامل الامتصاص)

الحل:

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{C_1}{C_2}$$

$$\frac{730}{0.73} = \frac{1}{C_2}$$

$$C_2 = \frac{0.73}{730} = 0.001 \text{ mg/100mL}$$

ثانياً: مقارنة التفاعلات اللونية

في حال استخدام قانون لامبير بير أو سبيكترو فوتوميتر .
مثلاً : إذا أردنا معايرة الحديد بشكل معقد ملون , ولمعرفة المركبات التي يشكل معها معقدات ملونة نعود للمراجع فنجد أنه يشكل معقد بني مع نيتروسيانات البوتاسيوم، ومعقد أحمر مع 1.1 فينانترولين .

ما الطريقة المتبعة لاختيار الأفضل في حال تواجدهما كليهما في المخبر ؟

الطريقة الأمثل هي معرفة التفاعل الذي يعطي حساسية أكثر (يقيس التراكيز القليلة).

يكون الامتصاص أكبر عندما يكون التركيز أكبر وذلك عندما يكون عامل الإنطفاء أكبر.

لذلك أقوم بتفاعلين بنفس التركيز من الحديد العياري وبمحفد الجهاز نفسه وأقوم بالتفاعلين اللونيين والذي يعطيني امتصاص أكبر ← يكون عامل الإنطفاء أعلى ← وبالتالي تكون حساسيته أفضل.

اختار التفاعل الذي يعطيني عامل إنطفاء أعلى وذلك لأنه ولو كان التركيز صغير ممكن أن يحدث لدي امتصاص

ثالثاً: حساب pka الأدوية:

يمكن استخدام السبيكتروفوتوميتر لحساب الـ pka للأدوية ويهمننا ذلك لأن الفعالية العلاجية تتبع للـ pka حسب تشردها، عن طريق العلاقة (هاندرسون هاسلباخ) :

$$pH = pka + \log \frac{\text{الحمض}}{ca} \frac{(non\ protorated)}{(protorated)}$$

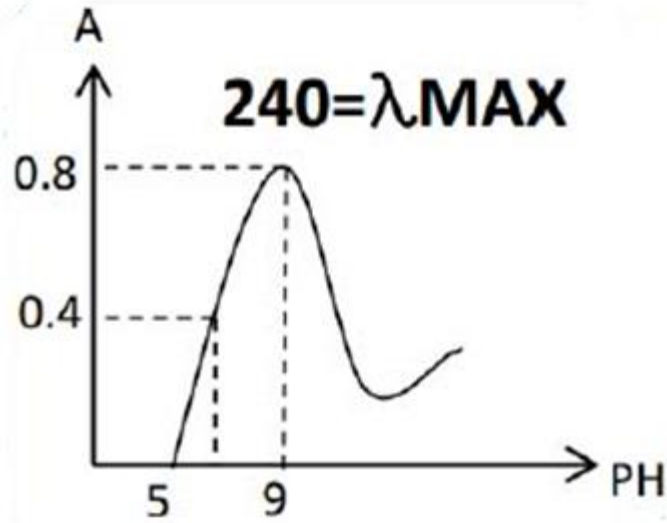
مركبات الأدوية تكون إما ضعيفة الحموضة أو ضعيفة القلوية , وتمتص الضوء بشكل متعلق جداً بالتشرد (الامتصاص الضوئي له علاقة بأشكالها المتشردة أو غير المتشردة حيث أن الشكل المتشرد يمتص الضوء بطريقة مختلفة عن الشكل غير المتشرد وعن طريق هذا الاختلاف نحسب الـ pka للأدوية).

مثال:

الفينوباربیتال (دواء يعالج الصرع و السلس البولي عند الأطفال) إذا كان بشكل ملح صودي (متشرد) فإنه يعطي امتصاص أعظمي بطول موجة 240 نانومتر , أما إذا كان بشكل حمض حر فلا يعطي امتصاص نهائياً عند طول الموجة 240 , بالتالي إذا حدث امتصاص عند طول الموجة فإنه يكون عائد للشكل المتشرد .

بالتالي في هذه الحالة يمكننا أن نعاير الدواء (الحمض) وأثناء المعايرة مع الوقت أقيس الـ pH والامتصاص كلما ستلنا مل من الصود .

ملاحظات على الشكل:



كلما ستلنا من الصود سيزيد الشكل المتشرد
عند الـ $pH=5$ لا يكون لدي أي امتصاص وعندما
نرفع قيمة الـ pH وذلك بإضافة $NaOH$ يزداد
الامتصاص حتى يصل إلى قيمة عظمى عند طول
الموجة 240 نانومتر وتكون قيمته 0.8 وتكون
كل قيمة الفينوبارييتال متشردة ولحساب قيمة
الـ pH التي يتشرد فيها نصف كمية الفينوبارييتال
نطبق علاقة هندرسون - هاسلباخ:

$$pka = pH + \log \frac{A^-}{HA}$$

عندما تكون المادة نصفها متشرد ونصفها غير متشرد يكون $pH=pka$ أي $\frac{A^-}{HA} = 1$

$$\log \frac{A^-}{HA} = 0 \text{ وبذلك فإن}$$

نأخذ نصف قيمة الامتصاص ونوجد قيمة الـ pH على الخط البياني وبذلك يكون لدينا:

$$pH=pka$$

تطبيقات:

إذا كان لدينا محلول بتركيز 5ppm mg/L ووزنها الجزيئي 200g احسب عامل

الانطفاء النوعي والجزيئي بفرض أن هذا المحلول يعطي امتصاص $A=0.3$ $L=1 \text{cm}$

محلول لمادة دوائية وزنها الجزيئي 200 mol عامل الانطفاء الجزيئي 4000mol/L

اعطى امتصاص $A=0.8$ $L=1 \text{cm}$ ما هو تركيز هذه المادة؟

THANK YOU

شكراً لاستماعكم

