طرائق وتقنيات حديثة
في التحليل الكيميائي الآلي

Methods and Moderen Techniques
in Instrumental Chemical Analysis

الأستاذ الدكتور
جميل موسى ضباب الزيدي
عميد كلية النخبة الجامعة

طرائق وتقنيات حديثة في التحليل الكيميائي الآلي
أ.د. جميل موسى ضباب الزيدي

طرائق وتقنيات حديثة
في التحليل الكيميائي الآلي
Methods and Modern Techniques in Instrumental Chemical Analysis

الاستاذ الدكتور
جميل موسى ضباب

2021م/1442هـ

543،08586
ض 222 ضباب،جميل موسى.
طرائق وتفنيات حديثة في التحليل الكيميائي الآلي/ جميل موسى ضباب.
ط 2_
بغداد: مكتب زاكي/2021
/ ص ؛ سم
1- الكيمياء التحليلية . أ . العنوان

م.و
2021/ 639

المكتبة الوطنية / الفهرسة أثناء النشر
رقم الإيداع في دار الكتب والوثائق ببغداد(639) لسنة 2021

جميع الحقوق محفوظة للمؤلف
يمنع استناخ أو طباعة الكتاب أو أي جزء منه من دون علم المؤلف

الاهداء

الى ابي وامي..الى جدتي وجدي ومن ذريتهم...
رحَم الله ارواحاً رحلت عن الدُنيا ومازالت حية فِي قلوبنا. وأعدهم لن يبقوا وحيدين سأظل أدعو لهم في كل لحظة. ربي أمن لقائي بهم في جنات النعيم، اللهم لا تحرمهم من لذة النظر إلى وجهك الكريم يارحمن يارحيم وتقبل مني هذا الجهد ثوابا وصدقة لارواحهم وطيّب مضاجعهم وآنس وحشتهم بماء الجنة. اللهم اغفر لآبائنا وأمهاتنا وارفع درجاتهم في الفردوس الاعلى ثوابا على ماقدموا الينا من احسان.

المؤلف

مقدمة الكتاب

قال احد الحكماء..المدرس يفتح الباب..وقرار الدخول يبقى لك.

(teacher open the door, but it is up to you to enter).

ينتهج الكتاب اسلوباً سلِساً ومبسطاً في عرض المادة العلمية فهو يتناول في بداية كل موضوع الاسس النظرية لفهم المادة بشكل مركز مدعوماً بالاشكال التوضيحية الماخوذة من احدث المصادر المتوفرة من الكتب أو البحوث المنشورة. ومن اجل التبسيط والفهم وتحقيق الغاية المتوخاة، اعتمد الكتاب المعادلات والصور الحقيقية لبعض الاجهزة لتقريب المادة ثم استدراج القارئ بمجموعة من الاسئلة المحلولة أو من اختبار معلوماته عن طريق حل الاسئلة في نهاية كل فصل. كما تضمن الكتاب معلومات تحليلية آلية مفصلة يمكن ان تناسب مستويات مختلفة في الحقول العلمية والمعنيين في التحليل الآلي في مؤسسات الدولة والشركات الخاصة المهتمة في هذا المجال... وايماناً من الباحث بحاجة المكتبة العربية لمثل هذا الكتاب الذي يعطي المعلومة السريعة لتنمي القابليات العلمية والتدريبية لاستخدام التقنيات الآلية بكل كفاءة في تحليل النماذج المختلفة، وللخبرة المتواضعة من خلال تدريسي لموضوعات التحليل الكيميائي الآلي لاكثر من عشرون سنة لطلبة الدراسات الاولية والعليا. وتركزت الاستفادة القصوى من شبكة الانترنيت من الاطلاع على عدد غير قليل من مجلات وكتب اغلبها حديثة ورصينة تم اعتمادها كمصادر اساسية لمادة هذا الكتاب مع محاولتي ان تتسم محتوياته بالوضوح والشمول مع الاحتفاظ بالأساسيات العلمية.

واعترافاً مني بالشكر والعرفان إلى صديقي العزيز السيد كريم ثامر شنيهج الشمري (رئيس كيمياويين اقدم) وزارة النفط – مركز بحوث النفط، لما ابداه من مساعدة ليس فقط في الطباعة والتنضيد بل ساهم في بعض الاضافات المهمة التي ساهمت لياخذ هذا الكتاب طريقة إلى النور. واخيرا اقراري بالفضل إلى زوجتي لما قدمته من رعاية وصبر وتشجيع ليس اثناء انجاز الكتاب بل طيلة مسيرتي العلمية.

<u>الطبعة الثانية</u>

بعد نفاد الطبعة الاولى(الف نسخة) من كتابنا (طرائق وتقنيات حديثة في التحليل الكيميائي الآلي) لعام 2013 ونظراً لزيادة الطلب على اقتناء هذا الكتاب والذي لمسته عبر وسائل التواصل الاجتماعي من داخل العراق وخارجه، دفعنا الى التفكير بطبع نسخ اخرى منه ولتكن فرصة لمراعاة التحديث في بعض محتوياته او اضافة فصول مهمة تتماشى مع

الحاجة الملحة من قبل الطلبة او التدريسين او اكمالاً لمنهج المختبرات بشكل عام. ونزولاً لرغبة المخلصين من الذين يتواصلون معنا ، لذا توكلت على الله واستعنت به بمراجعة عامة لفصول الكتاب. مما اهتديت ان اجري بعض التغييرات او اضافة بعض المعلومات التي اجدها مفيدة سواء كانت بمستوى اضافة فصول جديدة مثل(فصلي تقنية مطياف الكتلة وضمان وضبط جودة التحليل) او تحديث معلومات ضمن الفصل الواحد كما في(فصلي التحليل باشعة اكس والرنين النووي المغناطيسي) تلبية لطموح المعنيين اعتمادا على خبرتي الطويلة لتدريس مفردات هذا الكتاب او التي لم تذكر ضمن محتوياته مع مراعاة الاستعانة بمصادر علمية حديثة.

ما الجديد في الطبعة الثانية:

الفصل الجديد هو **مطياف الكتلة.** من اهم التقنيات التشخيصية التي لاتحتاج الى مواد قياسية وانما يتضمن تحليل العينة مباشرة بعد تعرضها الى التشظية وتظهر في طيف الكتلة على شكل ايونات جزيئية. ومن خلال تحليل هذه القمم نستدل على ماهية المادة وتركيبها.

وفصل جديد اخر هو **ممارسة المختبر الجيد:** ضمان وضبط الجودة للقياسات التحليلية: الفصول التحليلية السابقة تتوخى نتائج موثوقا بها ودقيقة في اي مجال ومن المنظمات الحكومية كافة والشركات الصناعية وخاصة في التحاليل الجنائية (DNA) على سبيل المثال. ومن هنا يتطلب الامر مختبرا منظما يتحلى بمواصفات الجودة ويتضمن هذا الفصل:

- صلاحية الطريقة التحليلية
- ضمان الجودة
- ضبط الجودة
- اعتمادية المختبرات

التغييرات

تم تحديث فصلي **(التحليل بواسطة اشعة أكس والرنين النووي المغناطيسي)** وحسب المصادر الحديثة. وثم اجراء تغييرات طفيفة غير محددة من ضمنها تصحيحات طباعية.

يشمل الكتاب خمس وعشرون فصلاً والمبينة عناوينها لاحقاً:-

1- الفصل الاول مقدمة- طرائق التحليل الآلي Methods instrumental Analytical

- الطرائق الكهروكيميائية Electrochemical Methods

2- الفصل الثاني- مبادئ الطرائق الكهروكيميائية principle of electrochemical methods

3- الفصل الثالث- الطرائق المجهادية potentiometric methods

4- الفصل الرابع- الطرائق الفولتامترية والبولوراكرافية voltammetry and polarography

5- الفصل الخامس- الطرائق الكولومترية والترسيب الكهربائي coulometric methods and Electrolysis

6- الفصل السادس- الطرائق التوصيلية conductometric methods

- الطرائق الطيفية Spectroscopic methods

7-الفصل السابع- مبادئ الطرائق الطيفية principle of spectroscopic methods

8- الفصل الثامن- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية Ultraviolet and visible absorption spectroscopy

9- الفصل التاسع- مطيافية التألق الجزيئي molecular fluorescence spectroscopy

10- الفصل العاشر- استطارة الضوء scattering of light

11- الفصل الحادي عشر- مطيافية الأشعة ما تحت الحمراء Infrared spectroscopy

12- الفصل الثاني عشر- مطيافية الامتصاص الذري Atomic absorption spectroscopy

13- الفصل الثالث عشر- مطيافية الانبعاث الذري Atomic emission spectroscopy

14 - الفصل الرابع عشر- التحليل الحراري thermal analysis

15- الفصل الخامس عشر- مطيافية أشعة اكس X- ray fluorescence spectrometry

16- الفصل السادس عشر- مطيافية الرنين النووي المغناطيسي NMR

17- الفصل السابع عشر- مطياف الكتلة Mass Spectrometer

- طرائق الفصل الكروماتوكرافي Chromatographic Separation Methods

18- الفصل الثامن عشر- المبادئ العامة للفصل الكروماتوكرافي General aspects of chromatography

19- الفصل التاسع عشر- كروماتوكرافيا الغاز Gas chromatography

20- الفصل العشرون- كروماتوكرافيا السائل liquid chromatography
21- الفصل الحادي والعشرون- كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء.
22- الفصل الثاني والعشرون- الترحيل الكهربائي electrophoresis
23- الفصل الثالث والعشرون- التحليل الحيوي Bioanalysis
24- الفصل الرابع والعشرون- التحليل الاحصائي Statistical Analysis
25- الفصل الخامس والعشرون- ممارسة المختبر الجيد good laboratory bractic

الفصل الاول
المقدمة- التحليل الكيميائي الآلي

وظيفة الكيمياء التحليلية

تطور التحليل الكيميائي جنباً إلى جنب مع تطور التقنيات الحديثة. ففي العهود الأولى للتحليل الكمي في نهاية القرن التاسع عشر، أعطى التحليل الكيميائي أسساً مهمة لتطور الكيمياء. فمثلاً أعتمدت دراسات الاحتراق التي أجراها لافوازيية La Voisier والنظرية الذرية التي افترضها دالتون Dalton على نتائج التحليل الكيميائي الكمي. وفي الوقت الحاضر فلا يمكن تطوير الترانزستورات بدون إجراء تحاليل كيميائية كمية دقيقة وحساسة، وبالمقابل كلما تحسن أداء الترانزستورات سمح ذلك ببناء أجهزة تحليلية أعلى حساسية ودقة ووسَّع مجال استخدامها، وفيما يلي بعض أهم مجالات استخدام التحليل الكيميائي:

- **الأبحاث الأساسية:** أول خطوات البحوث العلمية هو تحديد مكونات المنظومات المجهولة بالتحليل الكيميائي النوعي، يلي ذلك إجراء الاستقصاءات البنيوية والقياسات الكمية ومثال ذلك كشف وتخليق الأدوية الجديدة التي تتماشى مع ظهور امراض تم تحديدها حديثا.
- **تطوير المنتجات:** غالباً ما يتعلق تصميم وتطوير منتجات جديدة بالربط بين تركيبها الكيميائي وخواصها الفيزيائية أو أدائها، ومثال ذلك تطوير السبائك(alloys)، أو البوليمرات الجديدة التركيب كالبوليمرات النانوية(Polymer nanoparticles) التي شاع استخدامها في الاونه الاخيرة في مجالات حيوية مهمة.
- **ضبط جودة المنتجات:** تتطلب أغلب الصناعات ثبات جودة المنتج. وللتأكد من الوصول إلى هذا المتطلب، يتم إخضاع كلٍّ من المواد الأولية والمنتجات النهائية إلى تحاليل كيميائية موسعة وسريعة. من ناحية أخرى يجب المحافظة على المكونات اللازمة للإنتاج ضمن مستويات مثالية، في حين يجب المحافظة على الشوائب الأخرى، مثل المواد السمية في الأغذية، بمستويات أخفض من الحدود العليا التي تسمح بها المواصفات القياسية المعتمدة.
- **متابعة وضبط المُلوِّثات وتقيمها:** أشهر مشكلات التلوث هي المشكلات الناجمة عن المعادن الثقيلة والمبيدات العضوية المكلورة (chlororganic bestecides) على سبيل المثال. فهناك حاجة ملحة لإجراء تحاليل حساسة ودقيقة دورياً للتمكن من تحديد مدى انتشار المُلوِّثات في البيئة ومستويات التلوث بها من أجل ضبط المخلَّفات الصناعية،

ناهيك عن المتابعة المستمرة لتوفير مياه صالحة للشرب بين خضم مصادر التلوث المتنوعة.

– **طرائق الاختيار**: تتعلق قيمة الخام المتداول تجارياً بمحتواه من المعدن كما في حال تداول الخامات الثمينة التي تتطلب تحاليل حساسة وكفؤة. غالباً ما يؤدي الاختلاف الطفيف في تركيز المكون المطلوب دوراً حاسماً حين الاختيار بين المواد الأولية المعروضة، وقد يكون لهذا الاختلاف شأن ملحوظ تجارياً. لذلك من الجوهري هنا إجراء تحليل كيميائي دقيق وموثوق.

– **الدراسات الطبية والسريرية**: يظهر مستوى الاختلال الحيوي للكائن عبر مستوى مختلف العناصر والمركبات في سوائل جسمه، فمثلاً يُشار إلى حالة داء السكري عبر كشف الارتفاع الحاد في تركيز السكر ضمن البول الذي يعني ارتفاعه ضمن الدم اضافة إلى ذلك هناك امراض مستعصية تحتاج إلى تشخيص دقيق ومتقدم وهذا يتطلب اجهزة متطورة على سبيل المثال لا الحصر تقنية الترحيل الكهربائي الشعري (capillary electrophorises).

<u>منهجية التحليل</u>

تأخذ حلول كل المشاكل التحليلية أكانت نوعية أم كمية المنهجية ذاتها، وتتلخص هذه المنهجية باتباع التسلسل الاتي:

– **النمذجة**: النمذجة الصحيحة هو حجر الزاوية في الحصول على نتائج موثوقة، إذ من الضروري تحديد كيف ومتى وأين يجب أخذ العينة بحيث تُمثل بصدق المعطى الذي يجب قياسه.

– **المعالجة المبدئية للعينة**: عند التحليل الكمي يجب أخذ جزء من العينة يُمثلها، ويجب قياسه إما ككتلة أو كحجم، ففي حال تحليل عينة متجانسة يمكن تجزئتها بدون أي معالجة مسبقة، أما عند التعامل مع العديد من المواد الصلبة فإن الأمر يحتاج إلى معالجة مسبقة كالطحن والمزج. غالباً ما تحتاج العينة معالجة إضافية من أجل التحليل كالتجفيف والترميد والإذابة وقد تكون مثل هذه المعالجة كافية في بعض الأحيان وهو ما يعرف بالتحليل المباشر.

– **الاستخلاص**: تخضع نسبة مرتفعة من القياسات التحليلية للتأثير الناجم عن مكونات العينة الأخرى. تستفيد الطرائق الأكثر حداثة باطراد من التقنيات الآلية للتمييز ما بين إشارة المادة المراد تحديدها وإشارات المواد المتداخلة الأخرى. ومع ذلك، فإن هذا التمييز لا

يحصل دوماً، وأحياناً يتم إجراء تفاعل كيميائي انتقائي لحجب المواد المتداخلة. يجب استخلاص المادة المراد تحليلها من المكونات المتداخلة عندما لا يمكن التوصل إلى حجب إعاقتها للتحليل. إذا كان الهدف إجراء تحديد كمي ويجب أن تكون عمليات الاستخلاص كمية أو معروفة نسبة استخلاص المادة المراد تحديدها.

- **اختيار الطريقة:** يُعد اختيار طريقة إجراء التحليل الخطوة الحيوية في حل المشكلة التحليلية. لا يتم الاختيار حتى يتم تعريف مجمل المشكلة. وعند اختيار الطريقة لابد من إجراء مقارنة بين الحساسية والوثوقية والدقة المطلوبة للنتائج وبين التكاليف الواجب إنفاقها. فمثلاً، قد تزودنا مطيافية الفلورة بالأشعة السينية(XRF) بنتائج سريعة لمشكلة آثار العناصر لكنها غير دقيقة كمياً. كمثال آخر، تزودنا مطيافية الامتصاص الذري(AAS) بنتائج أكثر دقة، لكن على حساب العمل اليدوي الكيميائي المستهلك للوقت.

- **القياس النهائي:** وهي الخطوة الأسرع والأسهل من الخطوات السابقة، ويجب أن تكون موثوقة بقدر الخطوات الأخرى. الأمر الأساسي الذي يجب معرفته هو التناسب ما بين مقدار القياس وكمية المادة المراد تحديدها.

- **طريقة التحقق:** لا معنى من إجراء التحليل بدون معرفة أن النتائج التي سيتم الحصول عليها لها معنى واضح معلوم. لا يتم التأكد من هذا الأمر إلا بعد تأمين طريقة لائقة للتحقق من الطريقة قبل إجرائها وإظهار فاعلية أدائها لاحقاً. أفضل أساليب التحقق هو تحليل معايير مقياسية (كواشف مرجعية standard reagents) يجري اختبارها دورياً.

- **تقييم النتائج:** يجب تقييم النتائج التحليلية بطرائق إحصائية مناسبة والأخذ بمضامينها في ضوء المشكلة الأصلية.

وبالرغم من ان الطرائق المستخدمة في الكيمياء التحليلية تختلف اختلافاً ملحوظاً في معالجة اي مشكلة باي طريقة ولكنها تتضمن الخطوات الأساسية والتي سنتناولها بإيجاز كما يلي:

1- تشخيص المشكلة Identify of the problem

وتتضمن المعلومات المطلوبة من التحليل ونوعها هل هي كمية أو نوعية أو تشخيصه أو القيام بتحديد المشكلة وما المعلومات المفيدة لحلها ونوع الحل المناسب لهذه المشكلة.

2- تعيين الإجراءات العملية Design the experimental procedure

تشمل التحليلات الازم اجراؤها ومدى الدقة والضبط من النتائج والحساسية والانتقائية والتكلفة والسرعة ووضع معايير لاخذ العينات وجمعها اي تكون ذات حجم مناسب وان

تكون عينة ممثلة representative sample للمادة باكملها اضافة إلى تحديد المتداخلات.

3- التجارب المختبرية Conduct an experiment

اجراء تجارب لمعايرة الاجهزة والمعدات وتحديد الكواشف وجمع البيانات مع وضع خطة لمصداقية هذه التجارب

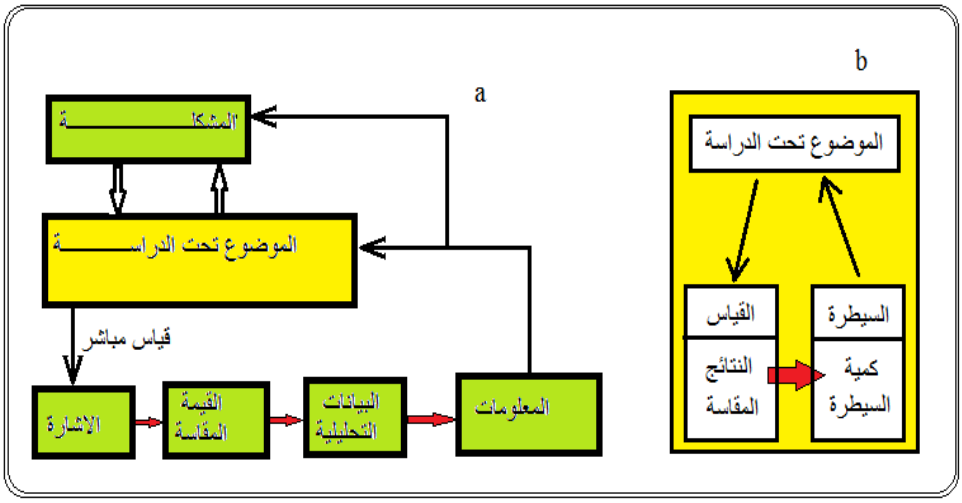
4- تحليل البيانات التجريبية Analyze the experimental data

اجرا تقييم للنتائج والى اي حد ممكن ان يعتمد عليها ويمكن التوصل إلى ذلك باستخدام بعض الطرائق الاحصائية للتحقق من النتائج وتفسيرها.

5- اقتراح الحلول المناسبة Propose a solution

اجراء تقييم للنتائج وهل يوجد استنتاج ناجح للمشكلة واي من النتائج تكون كفيلة بمعالجتها.

والشكل (1-1) يبين الخطوات التحليلية المتبعة.



شكل (1-1) خطوات العملية التحليلية

ولا يمكن ان لا ننسى دور المحلل الكيميائي في معالجة اي مشكلة، كما يجب ان يكون ملما بالطرائق العملية واستخدام الاجهزة الازمة للتحليل وممارسة البحث العلمي وقادر على تقييم وتفسير النتائج المستحصلة من عمليات التحليل.

التوجهات المستقبلية للطرائق والإجراءات التحليلية

هناك تطوير وتغيير مستمر في تقنيات وطرائق التحليل الكيميائي. يسمح التصميم الأفضل للأجهزة والمعرفة الأعمق لآليات العمليات التحليلية بالتطوير المستمر من أجل رفع مستوى الحساسية والدقة والموثوقية، تسهم هذه التغيرات في التوصل إلى طرائق تحليلية أكثر اقتصادية تقود بشكل متكرر إلى إلغاء خطوات الاستخلاص المستهلكة للوقت. التطوير والغاية النهائية وفق هذا الاتجاه هو التوصل إلى طريقة لا تحطم العينات ولا توفر الوقت فقط بل تترك العينة بعد تحليلها دون أي تغيير فيها من أجل استقصاءات أو عمليات أخرى وخاصة العينات النادرة. وتظهر الحاجة الملحة لتحليل اي مادة بعد حدوث مشكلة وامكانية معالجتها يتطلب إلى توفر قاعدة من المعلومات التي يستند عليها الباحث مع بيان التقنية التي تفي لهذا الغرض اي هناك ثالوثا في عملية التحليل، الشكل (1-2):

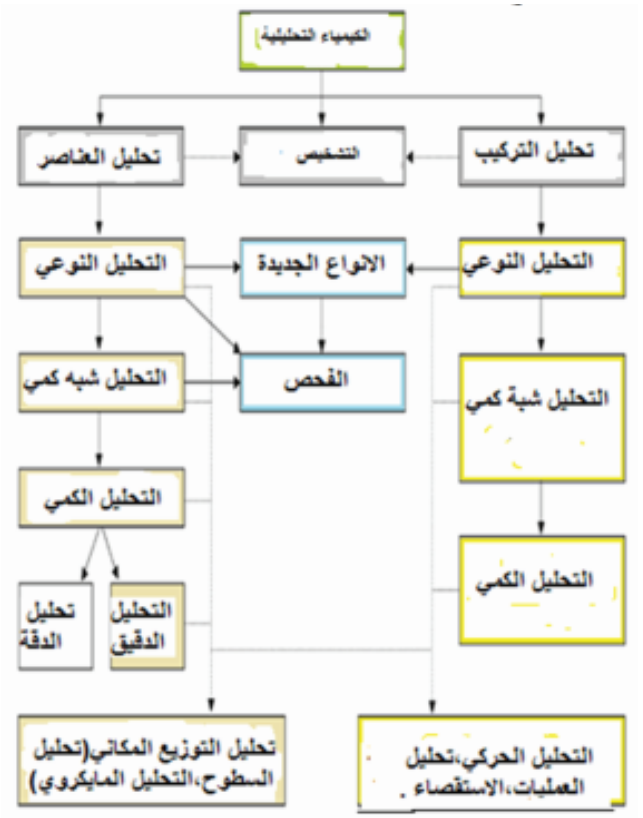
1- المشكلة (الموضوع تحت الدراسة).

2- الجزء النظري المتعلق بالمشكلة.

3- التقنية المتوفرة والمناسبة للتحليل.

شكل (1-2) ثالوث العملية التحليلية

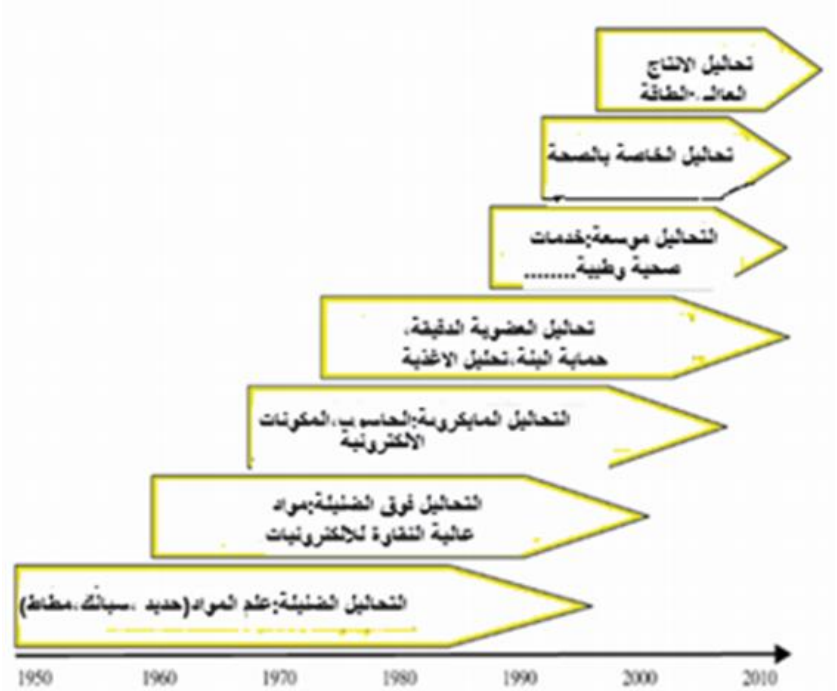
وقد تاتي العملية التحليلية متناسقة بشكل خطوات ابتداء من وجود المشكلة وانتهائاً بتقييم النتيجة النهائية اعتماداً على نوع وكمية العينة والغرض من التحليل، والشكل (1-3) يوضح مسح لفروع وللإجراءات القياسية التحليلية لتركيب المادة وعناصرها.



شكل (1-3) مسح للاجراءات القياسية التحليلية لتركيب المادة وعناصرها.

تصاعدت أهمية أتمتة العمليات التحليلية، التي قد تكون أحياناً بوساطة الإنسالات (الروبوتات) التحليلية، إذ يمكنها إجراء سلسلة من العمليات المختبرية التحليلية على نحو أسرع وأكثر كفاءة، وبموثوقية أعلى، وفي حالات أخرى يمكن استمرار متابعة إظهار نتائج تحليل مادة معينة في أثناء العمليات الإنتاجية الصناعية.

في العقد الأخير من القرن الماضي حصل تطوران مهمان أولهما إدخال عمليات الضبط عبر المعالِجات المنمنَمة (ميكروبروسيسور microprosser) ضمن الأجهزة التحليلية وثانيهما إظهار معطياتها باستخدام الحواسيب الدقيقة والصغيرة، والذي تحوَّل في بدء هذا القرن نحو استخدام الحواسيب الشخصية، والمحمولة والشكل (1–4) يبين التطور الحاصل في الكيمياء التحليلية تماشيا مع التحديات التي يفرزها تطور الحياة المستمر ابتدا من تحليل المواد إلى تحليل الطاقة.



شكل (1–4) التحديات الاقتصادية والاجتماعية لتطور بعض فروع الكيمياء التحليلية

أدى استخدام المعالِجات المنمنَمة إلى تحسين ضبط الجهاز وأدائه وسهولة إجراء صيانته الدورية، وذلك عبر وجود إمكانية إظهار حالة الأجزاء المكونة للجهاز. من الممكن تشغيل هذه الأجهزة بوساطة يد عاملة غير خبيرة نسبياً عبر المحاورة من خلال لوحة مفاتيح بسيطة تتضمن حفظ وإعادة طلب الطرائق المعيارية، وتشكيل تقرير، وإجراء اختبارات فحص لحالة الجهاز. أفادت الحواسيب التي تعالج المعطيات بدقة وبرامج الرسومات البيانية بشكل مشابه في التوصل إلى جمع البيانات التحليلية وحفظها ومعالجتها وتحسينها وتفسيرها. كما تم التوصل إلى الحالة المثالية للتحليل الكيميائي ورفع سوية المعلومة الناتجة عبر أنظمة إدارة المعلومة المخبرية التي تسمح بالمناقشة الآلية لعدد كبير من العينات والقياسات الكيميائية التي نتجت حاسوبياً، وأيضاً عبر إجراء معالجة إحصائية دقيقة للنتائج، وكذلك عبر أنظمة الخبرة التي تستطيع أن تقوم بالقيادة الحاسوبية الذكية وتساعد في حل المشاكل التحليلية. واليوم اصبحت العمليات التحليلية تشهد تطوراً سريعاً متوافقاً مع التقدم الحاصل في جميع ميادين العلوم ومن هذا يطلق علي الكيمياء التحليلية تسمية ملكة العلوم queen of the sciences لكونها تستخدم الإجراءات العملية في كل المجالات العلمية،

اي انها علم تطبيقي application science أو علم تجريبي experimental science كما يسمى من البعض. توالت ظهور المشاكل التحليلية ضمن قوالب جديدة، مع التطور السريع والمذهل في جميع ميادين الحياة برزت المشاكل والصعوبات شاخصة امام تقدمها مما ادعت الحاجة إلى ايجاد حلول سريعة وأنية لحل كل العقد والاسرار العلمية اينما وجدت، مما يجعل الكيمياء التحليلية علم يتناغم مع اغلب الحلول وتوفيرها مما دعى الباحثون يطلقون عليها علم حل المشاكل problems solving science.

تتابع ظهور المشاكل التحليلية ضمن قوالب جديدة، إذ تزايد الطلب على التحليل ضمن مجال واسع بوساطة الأجهزة المحمولة التي تحتاجها دراسات مجسات الفضاء الخارجي وأعماق المحيطات. أما في المجالات الأخرى، كالدراسات البيئية والسريرية، فقد تزايدت أهمية التحديد الدقيق للشكل الكيميائي لعنصر ما ضمن العينة أكثر من أهمية تركيزه الموجود فيها. المثالان الأكثر تداولاً هما شدة ارتفاع سمية المركبات العضوية للزئبق أو للرصاص مقارنة مع مركباتهما غير العضوية المشابهة. يُمثل تحديد وقياس العنصر ضمن شكل كيميائي محدد من أصعب المشكلات التي تواجه المحللين الكيميائيين في الوقت الحاضر.

<u>بعض الخواص الفيزيائية المعتمدة في التحاليل الآلية</u>

هناك عدد كبير من الصفات الفيزياوية التي أصبحت كأساس لطرائق التحليل الآلي:-

1-الصفات الفيزياوية للمادة: a – الكتلة، b- الحجم، c – درجة الانصهار، d – درجة الغليان.

2- الصفات الميكانيكية للمادة: a- الوزن النوعي، b- اللزوجة، c- الشد السطحي.

3-الصفات التي تعتمد على تفاعل الأشعة مع المادة: a- الامتصاصية، b- الانبعاث، c- تفريق الأشعة، d – التفلور والتفسفر، e – معامل الانكسار، f- استقطاب الضوء، g- الرنين النووي المغناطيسي.

4- الصفات التي تعتمد على قابلية المادة على الاكسدة والاختزال: a- فرق الجهد، b- التيار، c- كمية الكهرباء.

سياقات التحليل الآلي:

إن استخدام أي جهاز آلي في التحليل الكيميائية ما هي إلا خطوة ضمن خطوات عديدة تؤدي بمجموعها إلى الوصول إلى الغاية المبتغاة من التحليل، وتتشابه طرائق التحليل الآلي في بعض السياقات مع طرائق التحليل التقليدية إلا أنها تختلف معها أيضا في سياقات

عديدة أخرى. أما اهم السياقات الواجب إتباعها عند أي تحليل آلي هي: a– تهيئة النماذج، b– تعيير الأجهزة، c– نقاوة المواد المستعملة، d– النظافة، e– الدقة، f– وضع الأجهزة في مكان مناسب، g– التنظيم، h – ضبط درجات الحرارة، i– المهارة، j– التقيد بقواعد السلامة، k– تحديد الخطأ، l – معالجة النتائج، m – الصيانة.

تصنيف طرائق التحليل:

1– الطرائق الكيميائية:

تتضمن عمليات كيميائية وتستخدم مواد كيميائية وأجهزة وزجاجيات بسيطة كما يكون الجزء الضروري فيها قياس كتلة أو حجم.

2– الطرائق الآلية:

تتضمن استخدام آلات معقدة تعتمد على الكهرباء والبصريات والحرارة، اذ يتم فيها قياس الطاقة التي لها علاقة بتركيز النموذج قيد البحث والفحص والتدقيق لايجاد الحلول المناسبة لمشكلة معينة وقد وجد ان الطرائق الكيميائية والالية معا تعطي افضل النتائج.

محاسن ومساوئ الطرائق الكيميائية

محاسن الطرائق الكيميائية	مساويء الطرائق الكيميائية
1– تكون الطريقة بسيطة	1– فقدان في الخصوصية
2– تكون الطريقة مضبوطة وتصل دقتها احيانا إلى 0. 01%	2– تستغرق زمنا طويلا
3– تعتمد على قياسات مطلقة	3– تنخفض الدقة بانخفاض الكمية المحللة
4– الاجهزة المستخدمة رخيصة الثمن	4– الظروف االكيميائية المحيطة حرجة

محاسن ومساوئ الطرائق الآلية

محاسن الطرائق الآلية	مساويء الطرائق الآلية
1- يكون التعيين سريعاً	1- تحتاج إلى تعيير اولي
2- يمكن استخدام نموذج صغير	2- تعتمد الحساسية والدقة على مبرمج الآلة أو الطرائق الكيميائية المستخدمة للتعيير
3- يمكن تحليل النماذج المعقدة	3- غالبا ما تكون الدقة النهائية 5% +/-
4- الحصول على حساسية عالية	4- تكون تكاليف وإدامة الاجهزة المعقدة غالية الثمن
5- الحصول على قياسات موثوق بها	5- تحتاج إلى مكان واسع في المختبر
6-تتطلب تدريبا عاماً	6- تتطلب تدريبا خاصاً

بالرغم من ان الطرائق الالية قد استعملت كثيراً في البحوث التي اجريت في السنين الاخيرة، فلا يمكن القول بأنها قد حلت محل الطرائق الكيميائية، لاسيما ان الخطوة الكيميائية الاولية تكون الجزء المهم في الطرائق الالية وتتضمن هذه الخطوات اخذ النموذج sampling والاذابة والتغيير في حالات التأكسد وازالة الزيادة من الكاشف وتثبيت الاس الهيدروجيني adjustment of pH واضافة كواشف معقدة complexing agents والترسيب والتركيز ثم ازالة المتداخلات وربكما تكون خطوة ازالة المتداخلات اصعب خطوة. ويمكن استخدام تقنية الفصل technique separation لهذا الغرض.

التحليل الالي وطرق الفصل

يقسم التحليل الالي إلى ثلاث اقسام رئيسية:-

اولا- طرائق التحليل الكهروكيميائية.

يعتمد التحليل الكهروكيميائي electrochemical analysis الذي هو إحدى طرائق التحليل الكيميائي على الخواص الكهربائية للمادة. وترتكز هذه الخواص على عاملين أساسين هما: الطاقة اللازمة لاقتلاع الإلكترونات من المادة (أكسدتها) أو إدخالها إلى المادة (إرجاعها) وهذا ما يعبر عنة بجهد بداية الأكسدة أو جهد بداية اختزال ويستعاض عنه عادة بجهد نصف الموجة half- wave potential ($E_{1/2}$) وبما أن هذا العامل

مرتبط بالبنية الذرية أو الجزيئية للمادة؛ لذلك فإنه يستخدم للدلالة على النوعية. أما العامل الثاني فهو يتعلق بعدد الإلكترونات الناتجة عن عملية الأكسدة أو الإختزال. فإذا حُسِبت كمية الإلكترونات الكلية، وعُرِف عدد الإلكترونات n الذي تعطيه كل ذرة أو جزيء من المادة تُعرَف كمية المادة الكلية. وتحسب الكمية الكلية للإلكترونات التي هي كمية الكهرباء Q (بالكولوم C) بدلالة شدة التيار (i امبير A) والزمن t (ثانية S) بالعلاقة

$$Q = i. t$$

لذلك فإن كمية الكهرباء تدل على كمية المادة. وقد ربط بينهما العالم فاراداي بعلاقته المشهورة الاتية (والمسماة بعلاقة فاراداي):

$$m=Q/F$$

اذ ان Q كمية الكهرباء و F ثابت فاراداي = 96500 و m كمية المادة بالمعادل الغرامي أو المكافيء الغرامي Gram- equivalent (g-eq) والذي يعادل كمية من المادة تساوي وزنها الجزيئي (أو الذري) مقسوماً على n عدد الإلكترونات المتبادلة في التفاعل الكهركيميائي الحاصل لكل جزيئة (أو ذرة). وترتبط كثافة الإلكترونات التي تحصل نتيجة عمليات الأكسدة أو الإختزال للمادة بتركيزها وبالاتي نجد:

$$i = K. C$$

اذ K ثابت و C تركيز المادة.

وبناء على ذلك يمكن استخدام كمية الكهرباء أو (التيار الكهربائي) للدلالة على كمية المادة أو تركيزها أي للتحديد الكمي.

يقسم التحليل الكهركيميائي إلى قسمين رئيسين:

- التحليل الكهركيميائي المباشر direct electrochemical analysis
- المعايرات الكهروكيميائية electrochemical titrations

1- التحليل الكهروكيميائي المباشر

يعتمد هذا التحليل على تحديد المواد اعتماداً على خواصها الكهركيميائية مباشرة، ويشتمل على الطرائق الرئيسة الاتية:

a- التحليل بقياس كمية الكهرباء: يعتمد هذا التحليل على قياس كمية الكهرباء (المقدرة بالكولوم ومنها جاءت التسمية) من أجل تحديد المادة، ويمكن أن يجرى هذا التحليل في جهد ثابت أو في تيار ثابت. كما يمكن أن يتم بصورة عكسية وذلك بأن ترسب المادة المراد تحليلها بتفاعل كهركيميائي مناسب ثم يزال الراسب بتفاعل كهركيميائي آخر وتحسب كمية الكهرباء اللازمة. ومن المنحني العياري (Q = fC) تحسب التراكيز للمادة المحددة.

b- التحليل الفولت أمبيرومتري:volt-amperometric analysis

يعتمد التحليل الفولت أمبيرومتري على رسم المنحنيات الفولت أمبيرومترية، أي منحنيات تابعية التيار للجهد (I = fE) (لأكسدة أو اختزال) المادة. تحدد النوعية من معرفة جهد بداية الأكسدة (أو الإختزال) أو جهد نصف الموجة ($E_{1/2}$) وتحدد الكمية عن طريق معرفة قيمة التيار (تيار النفوذ الإشباعي diffusion current saturated) الذي يتناسب مع تركيز المادة. ويمتاز هذا التحليل بإمكانية تحديد أكثر من مادة بتجربة واحدة. كما يمكن استخدام الطريقة العكسية أيضا.

c- التحليل الاستقطاب (البولاراكرافي)polarographic analysis

يعتمد التحليل الاستقطابي (البولاروكرافي) على رسم المنحنيات الفولت أمبيرومترية باستخدام مسرى من الزئبق وخصوصاً مسرى الزئبق القطَار، وتسمى هذه المنحنيات بالموجات الاستقطابية polarographic waves. ويمتاز مسرى الزئبق القطّار من غيرة من المساري بأن جهد إختزال البروتون عليه كبير جداً بالقيمة السالبة مما يتيح إرجاع عدد كبير من الايونات المعدنية. وتحدد النوعية في التحليل الاستقطابي عن طريق معرفة جهد نصف الموجة $E_{1/2}$، وتحدد الكمية عن طريق معرفة تيار النفوذ الاشباعي (i_d المتناسب مع التركيز). ويشتمل التحليل الاستقطابي على عدد كبير جداً من الطرائق تختلف باختلاف طريقة التحديد المستخدمة.

d- التحليل الكهروكرافي: يعتمد التحليل الكهروغرافي electrographic analysis على وضع القطعة المعدنية المراد تحليلها على انود anode الجهاز، وتغطيتها بورقة ترشيح مبللة بالكتروليت مناسب، ثم إغلاق الدائرة بالكاثود cathode، ويطبق فرق جهد مناسب خلال زمن قصير جداً؛ مما يؤدي إلى أكسدة جزء صغير للغاية من هذه القطعة وانتقاله إلى ورقة الترشيح؛ اذ يتم الكشف عن الايونات المعدنية المختلفة المنتقلة إلى ورقة الترشيح بكواشف مناسبة. وتمتاز هذه الطريقة بإمكانية تحليل السبائك والقطع المعدنية من دون أن يتأثر شكلها أو وزنها بشكل محسوس مما يجعلها مهمة وملائمة لتحليل قطع الحلي والقطع الأثرية وما شابهها.

2- **المعايرات الكهركيميائية** electrochemical titrations : تعتمد المعايرات الكهركيميائية على إجراء المعايرات الكيميائية الحجمية المعروفة وتحديد نقطة نهايتها بطريقة كهركيميائية. والمعايرات الكيميائية هي الاتية: معايرات الأكسدة والإختزال، ومعايرات التعديل حامض- قاعدة، ومعايرات تشكيل المعقدات، ومعايرات الترسيب.

تصنف المعايرات الكهركيميائية كما يلي:

a- المعايرة الاجهاديةtitration potentiometric : تستخدم المعايرة الاجهادية في مختلف المعايرات الكيميائية إلا أنها تشترط أن تكون المادة المحددة والمادة الكاشفة (التي نعاير بها titrant) خاضعتين للنظام العكوس reversible system أو النظام المختلط mixed system وذلك حتى يكون جهد التوازن مستقراً. وتحصل عند نهاية المعايرة قفزة في الجهد ومنها يُعرَف الحجم اللازم لنقطة نهاية المعايرة (V_{eq} من الحجم المقابل لمنتصف القفزة الاجهادية) ومن ثم يحدد التركيز المجهول.

b- المعايرة الـ pH مترية pH- metric titration : تستخدم المعايرة الـ pH مترية (بقياس pH المحلول) لمعايرات التعادل فقط. وتعتمد على قياس قيم pH المحلول في مختلف مراحل المعايرة حيث تحصل قفزة في الـ pH عند نقطة نهاية المعايرة. ويعرف V_{eq} من الحجم المقابل لمنتصف القفزة. ويحدد التركيز المجهول للحامض أو للقاعدة كما في المعايرة السابقة.

c- المعايرة بقياس التوصيلية الكهربائيةconductometric titration : تعتمد المعايرة بقياس الناقلية الكهربائية على قياس تغيرات ناقلية المحلول في مختلف مراحل المعايرة. ونظراً لتغير نوعية الايونات وتركيزها أثناء المعايرة فان الناقلية الكهربائية تزداد أو تنقص. وتحدد نقطة نهاية المعايرة بالاعتماد على الاختلاف بين قيم الناقلية الكهربائية قبل نقطة نهاية المعايرة وبعدها، والذي يؤدي إلى حصول انحناء في منحني المعايرة العام. ويعرف V_{eq} من الحجم المقابل لنقطة الانحناء المذكورة في منحني المعايرة. ويحدد تركيز المادة المدروسة كما في المعايرة الاجهادية.

d- المعايرة عالية التردد high frequency titration : تعتمد المعايرة عالية التردد على تطبيق حقل كهربائي عالي التردد (25- 30 ميكاهرتز) على المحلول المدروس من خارج وعاء التحليل أو من داخلة ولكن بشكل معزول عن المحلول بعازل زجاجي أو بلاستيكي. إن الترددات العالية للحقل الكهربائي تؤدي إلى اهتزاز الايونات حول وضع التوازن، ويحصل ما يسمى بالاستقطاب الانحرافي distortion polarization أو الاستقطاب التوجيهي orientation polarization للجزيئات، وهذا يؤدي إلى تغيرات في الناقلية الكهربائية والعازلية الكهربائية بتغير تردد الحقل وبتغير نوعية وتركيز الايونات والجزيئات. مما يجعل شدة تردد الحقل ثابتة وقد تظهر تغيرات واضحة في الناقلية تحصل عند نقطة

نهاية المعايرة، ومن معرفة الحجم المقابل لنقطة الانكسار في منحني المعايرة يعرف V_{eq}، ويحدد تركيز المادة المحددة كما في المعايرة الاجهادية.

تمتاز المعايرة عالية التردد عن المعايرة بقياس الناقلية الكهربائية بأنها تصلح لكثير من الحالات التي لا تصلح لها المعايرة بقياس الناقلية الكهربائية، كأن تكون ناقلية المحلول ضعيفة أو أن المحاليل غروية أو أن المساري تؤثر بشكل واضح في التفاعل المدروس.

e- المعايرة الأمبيرومترية amperometric titration : تستخدم المعايرة الأمبيرومترية لمختلف المعايرات الكيميائية شريطة وجود مادة فعالة كهروكيميائياً، حيث يطبق جهد يوافق هذه المادة ويقاس تيار النفوذ الموافق لها في مختلف مراحل المعايرة، ومن الانكسار في منحني المعايرة تحدد نقطة نهايتها. ويعرف V_{eq} من الحجم الموافق لنقطة الانكسار المذكورة، ومن ثم يحدد تركيز المادة المدروسة كما هو مبين في المعايرة الاجهادية.

f- المعايرة البي أمبيرومترية pi- amperometric titration : تعتمد المعايرة البي أمبيرومترية على تطبيق فرق في الجهد على مسريين كاشفين موجودين في المحلول المدروس وقياس التيار الكهربائي المار بينهما.

g- المعايرة الكولومترية coulometric titration : تختلف المعايرة الكولومترية عن كل المعايرات السابقة، فهي في الحقيقة توليد المادة الكاشفة (التي نعاير بها) كهروكيميائياً (أو كولومترياً) باستخدام تيار كهربائي للتوليد (موجب أو سالب) مُحدَّد الشدة تماماً (i)، ومن معرفة الزمن اللازم لنهاية المعايرة (teq)، تُحسَب كمية الكهرباء اللازمة (Q) من:

$$Q = i. t_{eq}$$

ومن معرفة Q تُحسَب كمية المادة بالمعادل الغرامي أو المكافئ الغرامي (g- eq). وتُستخدَم هذه الطريقة في مختلف المعايرات الكيميائية، وهي ذات دقة وحساسية عاليتين وقابلة للمكننة التامة، إلا أنها تتطلب معرفة دقيقة للمردود التياري للتوليد. والفصول الثاني والثالث والرابع والخامس والسادس تناولت هذه الطرائق بالتفصيل.

ثانيا- الطرائق الطيفية.

يتضمن هذا القياس إثارة المادة إلى مستويات عالية من الطاقة بالطاقة الضوئية أو الكهربائية ثم رجوعها إلى مستوى طاقة منخفض فينبعث منها من الطاقة الممتصة وتكون مقياساً لكمية المادة وذلك بواسطة الطرائق الآتية:

a. طرائق تسجيل الطيف الانبعاثي، اذ تثار المادة باستخدام القوس الكهربائي.

b. المطياف الفوتومتري باللهب، اذ تثار المادة باستخدام أنواع مختلفة من اللهب وبعد رجوع المادة إلى حافة طاقة منخفضة تقاس كمية الضوء المنبعثة.

c. وميض الأشعة السينية اذ تثار المادة بأشعة سينية ذات طول موجي معين وبعد رجوعها إلى حالة طاقة منخفضة تقاس الأشعة المنبعثة وهي التي تقوم بتمييز العنصر.

امتصاص الطاقة الضوئية: ويتضمن قياس كمية الطاقة الضوئية عند طول موجة معينة تمتصها المادة المراد تحليلها، ولهذا يمكن استخدام ما يلي:

1- الطرائق الطيفية اللونية.

2- الطرائق الطيفية في المنطقة فوق البنفسجية.

3- الطرائق الطيفية في المنطقة تحت الحمراء.

4- طريقة الأشعة السينية.

5- الرنين النووي المغناطيسي: تتضمن هذه الطريقة التفاعل بين موجات الراديو وأنوية الذرات التي تكون في مجال مغناطيسي.

وكما مبين في الفصول السابع والثامن والتاسع والعاشر والحادي عشر والثاني عشر والثالث عشر والرابع عشر والخامس عشر والسادس عشر.

ثالثا- طرائق الفصل في التحليل

التحليل الكروماتوكرافي

يعتمد هذا النوع من التحليل على اختلاف المواد بعضها عن بعض في ميلها للأمتزاز أو التجزئة أو التبادل خلال سطح مغلف بمذيب مناسب أو خلال مادة كيميائية ومن ثم يمكن أن تنفصل تلك المواد، وتنقسم طرائق التحليل الكروماتوكرافي إلى:

1. كروماتوكرافيا الامتزاز: ويقصد به التحليل الكروماتوغرافي عن طريق الأمتزاز على السطح.

2. كروماتوكرافيا التبادل الأيوني: ويقصد به التحليل الكروماتوكرافي عن طريق تبادل الأيونات بين مادة التقدير وبين أيونات السطح الذي يحدث عملية التبادل وهي مادة كيميائية راتنجية.

3. كروماتوكرافيا التجزئة: ويقصد به التحليل الكروماتوكرافي عن طريق الفصل التجزيئي لمخلوط من عدة مواد وتنقسم هذه الطريقة إلى كروماتوكرافيا العمود بالتجزئة ويتم فيها التحليل على عمود معبأ بمادة معينة.

4. كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة: وفيه يتم التحليل الكروماتوغرافي بالامتزاز أو التوزيع على ألواح زجاجية تنثر عليها مادة مسامية يجرى عليها الفصل والتحليل.

5. كروماتوكرافيا الغاز: ويتضمن هذا التحليل الكروماتوكرافي باستخدام غاز ناقل يقوم بحمل أبخرة المواد المحللة فيتم فصل أبخرة هذه المواد تبعاً لدرجات غليانها أي تظهر أولا المواد ذات درجات الغليان المنخفضة يتبعها المواد ذات درجات الغليان العالية وتخرج هذه الأبخرة لتنضم إلى الغاز الناقل ومن ثم يمكن فصل هذه المواد عن بعضها وتعينها ويمكن أيضاً بطريقة كروماتوغرافيا الغاز إجراء التقدير الكمي لهذه المواد المنفصلة. وهذ تم التطرق له تفصيليا في الفصول السابع عشر والثامن عشر والتاسع عشر والعشرون والحادي والعشرون والثاني والعشرون.

طرائق اخرى مختلفة

1. التحليل باستخدام البولاروميتر: يقاس مقدار الانحراف الناتج عند مرور الضوء المستقطب خلال المحلول.

2. التحليل بقياس انكسار الضوء: يقاس معامل الانكسار الذي يقوم بتعيين التركيب الكيميائي للخليط.

3. مطياف الكتلة: يمكن بهذه الطريقة قياس النسبة بين شحنة كتلة أيونات مختلفة ناتجة من تكسير جزيئات كبيرة ومنة يمكن إيجاد الوزن الجزيئي والتركيز.

4. التوصيل الحراري: وفيه يقاس التوصيل الحراري ويستدل منه على تركيب المادة.

5. طرائق تحليل المواد المشعة: وفيه تشع المادة لتصبح ذات نشاط إشعاعي ثم تعد الأشعة أو الجسيمات المتدفقة منها لغرض تقديرها كمياً.

اسئلة الفصل الاول

1- ميز بين التحليل الكيمياوي والتحليل الألي. والتحليل الذي يستخدم الصفات لفيزياوية.

2- ما الفرق بين التحليل النوعي والتحليل الكمي مع الامثلة.

3- متى نختار إجراءات التحليل الكيميائي إلى جانب التحليل الالي وبالعكس؟

4- ما الخطوات العملية التي تتبعها في عملية تحليل اي مادة.

5- ماذا يحدث بعد ان يحصل الكيمياوي على بيانات من عملية التحليل.

6- كيف يمكن للسيطرة النوعية ان تؤشر الاخطاء في الإجراءات المختبرية الروتينية.

7- ما الإجراءات التحليلية التي تتخذ التحليلية عند تحليل تركيب المادة.

8- بين اهم التحديات التي ساهمت في تطوير اهم فروع الكيمياء.

الفصل الثاني
طرائق التحليل الكهروكيميائية Electrochemical methods

الكيمياء الكهربائية (Electrochemistry)

هي أحد فروع الكيمياء التي تدرس التفاعلات التي تحدث عند سطوح النواقل الكهربائية (مثل الإلكترونات المؤلفة من المعادن) أو نصف ناقل (مثل الجرافيت) أو المحاليل الالكتروليتية (Electrolyte).

تعد الكيمياء الكهربائية أحد فروع الكيمياء الفيزيائية وتلعب دوراً هاماً في العلوم والتكنولوجيا الحديثة، ومنها على سبيل المثال:

1) عمليات التحاليل الكهربائية العديدة والمنتشرة الإستخدام في كافة المختبرات.

2) أجهزة القياس المختلفة في مجال الطب، الهندسة، البيولوجيا وغيرها تقوم على أساسيات كهروكيميائية.

3) استخدام العمليات الكهروكيميائية العكسية والغير العكسية في العديد من التطبيقات الصناعية الهامة، مثل الترسيب الكهربائي، تنقية العديد من العناصر، تحضير العديد من المركبات العضوية والغير عضوية وكذا الغازات، الطلاء الكهربائي، وغيرها.

4) استخدام عمليات التحليل الكهربائي في تحلية المياه.

5) انتاج وتحسين خلايا الوقود بأنواعها المختلفة والتي تستخدم في مجالات عديدة.

وعلاوة على ذلك فإن الطاقة الكهربائية تساهم بفاعلية في حل مشكلة الطاقة وبالتالي فإنها تعمل على حل العديد من المشاكل البيئية من أجل بيئة صحية ونظيفة.

إذا استطاع تفاعل كيميائي أن يتم بفضل جهد كهربائي أو استطاع التفاعل أن يولد جهداً كهربائيا كما في حالة البطاريات، عندها ندعو مثل هذا التفاعل **إلكتروكيميائي**. وبشكل عام تتم الكيمياء الكهربائية عن طريق تفاعلات كيميائية من نوع تفاعل أكسده– اختزال. بشكل منفصل تفصل بينهما مسافة معينة يتم خلالها انتقال للالكترونات مما يتيح فرصة لتشكل جهد كهربائي وتيار كهربائي. أما انتقال الشحنة المباشر من جزيئ إلى آخر فلا يدخل في نطاق الكيمياء الكهربائية.

تعد جميع التفاعلات الكيميائية ذات طبيعة كهربائية. والكيمياء الكهربائية في حقيقتها دراسة لظواهر الأكسدة والاختزال، اذ تتناول دراسة التحول المتبادل بين الطاقة الكيميائية

والكهربائية ضمن إطار تفاعلات الأكسدة والاختزال التي تشكل قسماً هاماً جداً من التفاعلات الكيميائية.

عندما يقترن تفاعل كيميائي بمرور تيار كهربائي تكون تلك العملية عملية كهروكيميائية. فإما أن يكون تفاعل اختزال بسبب جهد كهربائي موصول به من الخارج (كما في تحليل كهربائي)، أو ينشأ التيار الكهربائي من تفاعل كيميائي بين مواد مناسبة تكوّن جهدا كهربائيا (كما في خلية كلفانية) تلك الجهود الكهربائية التي هي من خصائص المواد المختلفة نجدها مدونة في قائمة الجهود القياسية. ولا يعتبر مجرد انتقال الإلكترونات بين جزيئات أو أيونات أو ذرات من العمليات الكهروكيميائية، ولكن من صفة العمليات الكهروكيميائية أنها تتميز بفصل مكان جريان تفاعل أكسدة وجريان تفاعل اختزال.

تجري تفاعلات الأكسدة والاختزال المميزة للكيمياء الكهربائية على السطح الفاصل بين القطب والالكتروليت. **ولهذا يمكن تعريف الكيمياء الكهربائية بأنها علم العمليات التي تتم على الأسطح الفاصلة بين أطوار مختلفة، أي بين قطب ووالكتروليت.**

<u>اكتشاف الكيمياء الكهربائية</u>

كانت بحوث تشريح الضفدعة من قبل العالم الإيطالي لويجي كلفاني هي المؤدية إلى اكتشاف ظاهرة الكيمياء الكهربائية: تتقلص عضلات رجل الضفدعة عندما تتلامس أسلاك من معدنين مختلفين ملامسين لرجل الضفدعة. بعد ذلك استطاع أليساندرو فولتا في عام 1799 اختراع أول بطارية. فكانت البطارية هي أول مصدر– قبل اختراع توليد الكهرباء بواسطة مولد كهربائي للتيار الكهربائي، ساعدت فيما بعد على اكتشافات عظيمة، وكذلك اكتشاف وتحضير الصوديوم والبوتاسيوم والباريوم وسترونشيوم والكالسيوم والمغنسيوم وخلال السنوات 1807/ 1808 عن طريق العالم همفري ديفي.

تمكن العالم الألماني "يوهان فيلهيلم ريتر خلال القرن الثامن عشر من القيام ببحوث عن الكلفانية واخترع أول مركم. ثم جاء ميشيل فاراداي وأدخل الاصطلاحات قطب Electrode، والكتروليت electrolyte، مصعد Anode ومهبط cathode وأنيون Anion واكتشف عام 1832 قوانين فاراداي عن التحليل الكهربائي.

وحصل العالم ياروسلاف هيروفيسكي عام 1959 على جائزة نوبل في الكيمياء لاكتشافه طريقة تحليل كهروكيميائية، التصوير القطبي.

خلال الأعوام 1894/1887 اكتشف الألماني فلهيلم أوستفال أن الخلية الكهربائية لابد وأن يكون لها مستقبلاً كبيراً. ومن ضمن انجازات القرن العشرين كانت خلية الوقود بالفعل جهازاً

مهماً، ووجد تطبيقه في غزو الفضاء؛ ففي برنامج أبولو، اذ هبط الإنسان على سطح القمر عام 1969 استخدمت خلايا وقود تعمل بالهيدروجين، كانت تحضر لرواد الفضاء ماء الشرب. كذلك استخدمت خلال الوقود في مكوك الفضاء لتزويده التيار الكهربائي. وفي وقتنا الحالي والمستقبل ستطبق خلايا الوقود في إنتاج الطاقة الكهربائية بشكل واسع لتخلف النفط والفحم، وكذلك في تسيير السيارات الكهربائية.

الاكسدة والاختزال

تعبر الأكسدة والاختزال عن تغير حالة تأكسد تحدث للذرة أو لأيون أو جزيئ داخل في تفاعل كيميائي. فاصطلاح "تأكسد" معناة اكتساب ذرة "لشحنة كهربائية" في حالة أن تكون جميع رابطة روابطها بذرات أخرى من نوع رابطة أيونية بنسبة 100%. والذرة أو الأيون الذي يعطي إلكترون إلى ذرة أو أيون آخر تزداد حالة اكسدتها، والذرة المستقبلة للإلكترون تنخفض حالة أكسدتها. فالأكسدة والاختزال تجريان في آن واحد ويسمى ذلك تفاعل أكسده–اختزال (redox reaction).

وعلى سبيل المثال: عندما تتفاعل ذرة صوديوم مع ذرة كلور، يعطي الصوديوم إلكترون واحد ويصل إلى حالة أكسدة +1 وتكتسب ذرة الكلور ذلك الإلكترون وتنخفض درجة أكسدتها بمقدار –1. وتعادل إشارة حالة الأكسدة (موجبة/ أو سالبة) قيمة الشحنة الكهربية لكل أيون. ويرجع تكوين الرابطة الأيونية بين ذرة الصوديوم وذرة الكلور إلى تجاذب شحنتيهما المختلفتين.

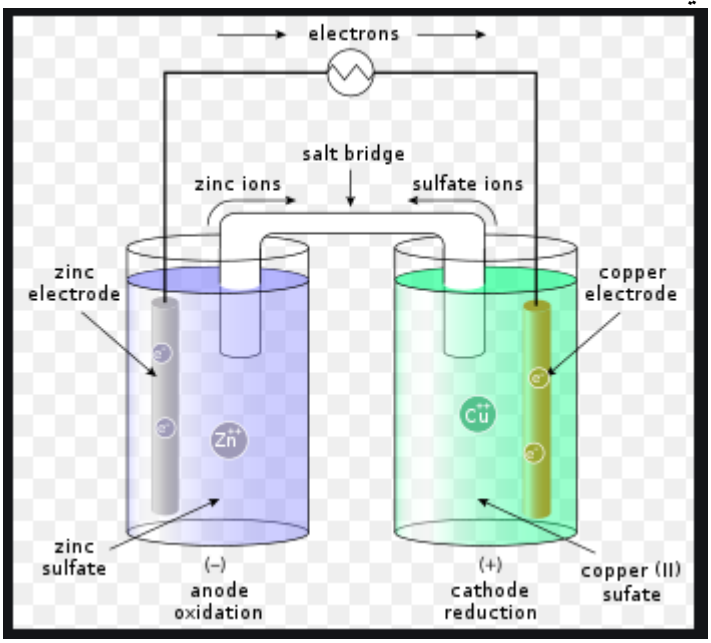
افتقاد ذرة لإلكترونات يسمى "**أكسدة**" واكتساب ذرة أو جزيئ لإلكترونات هو "**الاختزال**".

الأوكسجين هو عامل الأكسدة المعتاد، لكنه ليس الوحيد. وعلى الرغم من التسمية، فلا يحتاج تفاعل الأكسدة إلى الأكسجين دائما. فعلى سبيل المثال، يمكن اشعال النار بمادة مؤكسدة أخرى غير الأوكسجين مثل الفلور، وحتى حينما تشتعل النار بالفلور فيصعب إطفاؤها. ذلك بسبب أن الفلور يعتبر مادة مؤكسدة أشد من الأوكسجين، اذ يمتلك سالبية كهربائية أعلى من السالبية الكهربائية للأوكسجين.

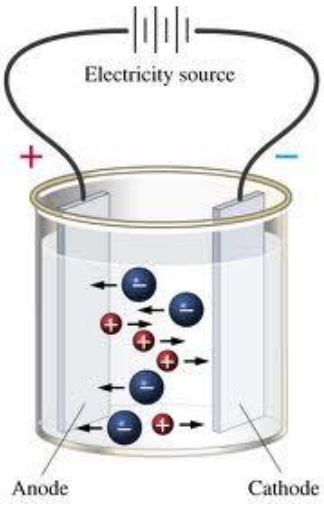
اذ تعرف الطرائق الكهروكيميائية: هي تلك الطرائق الكيميائية التي تبنى على الاستفادة من تلك المحاليل.

مثال: لو اخذنا محلول الكتروليتي وغمسنا فيه قطبين موصلين واوصلناهما لدائرة كهربائية وبتوجيه فولتية عالية فهذا يسبب مرور تيار كهربائي في الخلية وهذا النوع من الخلايا

تسمى "خلية الكتروليتية" وبنفس الوقت يمكن ان تعمل الخلية كدائرة كهربائية اذ تعمل كمصدر داخلي للتيار فتسمى هذه الخلية " خلية كلفانية".



شكل (2–1) خلية كلفانية (مصدر داخلي للتيار)



شكل (2–2) خلية الكتروليتية (مصدر خارجي للتيار)

تعتمد طاقة الخلية على:-

1. طبيعة المحلول.

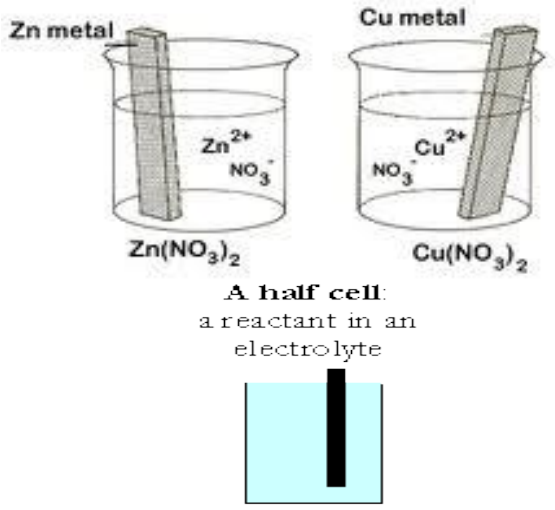
2. المسافة بين الاقطاب.
3. درجة الحرارة.
4. طبيعة الاقطاب.
5. وجود أو عدم وجود رج.
6. صفات الخلية الخارجية.

الاقطاب Electrode

يوجد نوعين من الاقطابهما:-

1. الاقطاب الخاملة Inert Electrode وتعمل على الايصال الكهربائي للمحلول دون الدخول بأي تفاعل مع اي المواد مثل C, Ag, Au, Pt.
2. الاقطاب الفعالة Active Electrode وتكون معمولة من عناصر بحلتها غير المتحدة وتدخل بتفاعل كيميائي مع ايونات نفس العنصر في المحلول اي عنصر غير متحد مغمور بمحلول نفس ايوناته والجهد المعمول على القطب سوف يعزى إلى التركيز الايوني الموجود لذلك العنصر مثل قطب Ag, Hg, H والعناصر الاكثر فعالية لا تستخدم كأقطاب لانها شديدة الفعالية اما Fe, Cr لا تتكون منها اقطاب لان سطوحها غير متماثلة.

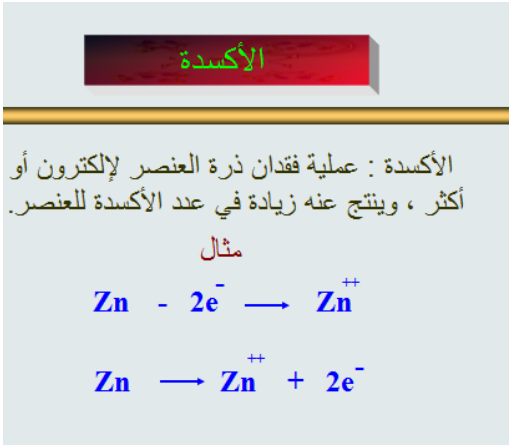
كل قطب هو نصف الخلية ونتيجة تفاعل القطبين يتكون تفاعل الخلية (Cell reaction).

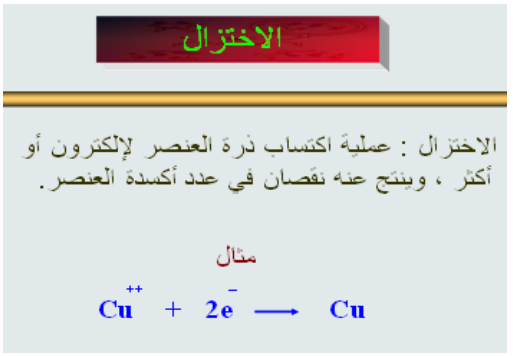


شكل (2-3) نصف خلية الكتروليتية

كما يلاحظ ان اي من الاقطاب يغمر بمحلول يحتوي ايونات نفس العنصر مثلا Cu يغمر بمحلول ذو تركيز معين من محلول $Cu(NO_3)_2$ وهكذا.

عند مرور تيار كهربائي مباشر خلال خلية الكتروليتية فسوف يحدث تفاعل اكسدة عند الانود Anode ويكون مصدر للالكترونات ee بينما الكاثود تحدث عليه تفاعل الاختزال ويكون مستقبل للالكترونات ee وتكتمل الدائرة الخارجية بالايصال الايوني للمحلول اي ان هناك تفاعلات اكسدة واختزال، تفاعلات الأكسدة والاختزال وهي: التفاعلات التي يحدث فيها انتقال للإلكترونات من ذرة إلى أخرى بحيث يحدث تغيير في العدد التاكسدي للعناصر.





وعندما يكون هناك تفاعل تأكسدي اختزالي:

$$xA_{red} + sB_{OX} \leftrightarrow PA_{ox} + qB_{red}$$

اذ ان كل من x, s, p, q يمثل عدد الجزيئات.

$$K = \frac{(Aox)^{p}_{eq}\,(Bred)^{q}_{eq}}{(Ared)^{x}_{eq}\,(Box)^{s}_{eq}}$$

اذ ان k هو ثابت التوازن.

$$Q = \frac{(Aox)^{p}_{act}\,(Bred)^{q}_{act}}{(Ared)^{x}_{act}\,(Box)^{s}_{act}}$$

اذ Q معامل الفعالية الكمية activity quotient.

$$\Delta G = RTlnQ - RTlnK$$

لكل خلية $\Delta G = -nF\,Ecell$.

$$Ecell = \frac{-\Delta G}{nF} = -\frac{RT}{nF}\ln Q + \frac{RT}{nF}\ln K$$

$$Ecell = \left[\frac{RT}{nF}\ln\frac{(Aox)^{p}_{eq}}{(Ared)^{x}_{eq}} - \frac{RT}{nF}\ln\frac{(Aox)^{p}_{eq}}{(Ared)^{x}_{act}}\right] - \left[\frac{RT}{nF}\ln\frac{(Box)^{s}_{eq}}{(Bred)^{q}_{eq}} - \frac{RT}{nF}\ln\frac{(Aox)^{s}_{act}}{(Ared)^{q}_{act}}\right]$$

$$E^{0}_{A} = \frac{RT}{nF}\ln\frac{(Ared)^{x}_{eq}}{(Aox)^{q}_{eq}}$$

$$E^{0}_{B} = \frac{RT}{nF}\ln\frac{(Bred)^{q}_{eq}}{(Box)^{s}_{eq}}$$

$$Ecell = \left[E^{0}_{B} - \frac{RT}{nF}\ln\frac{(Bred)^{q}_{act}}{(Box)^{s}_{act}}\right] - \left[E^{0}_{A} - \frac{RT}{Nf}\ln\frac{(Ared)^{\pi}_{act}}{(Aox)^{p}_{act}}\right]$$

$$E_{A} = E^{0}_{B} - \frac{Rt}{nF}\ln\frac{(Ared)^{p}_{act}}{(Aox)^{s}_{act}}$$

$$E_{B} = E^{0}_{B} - \frac{RT}{nF}\ln\frac{(Bred)^{q}_{act}}{(Box)^{s}_{act}}$$

المعادلتان اعلاه تمثل معادلات نيرنست (Nernst equation).

$Ecell = E_B - E_A$

$pAred \leftrightarrow pAox + ne$

$sBox + ne \leftrightarrow qBred$

للسهولة تكتب بجانب واحد:

$pA_{ox} + ne \leftrightarrow \pi\, A_{red}$

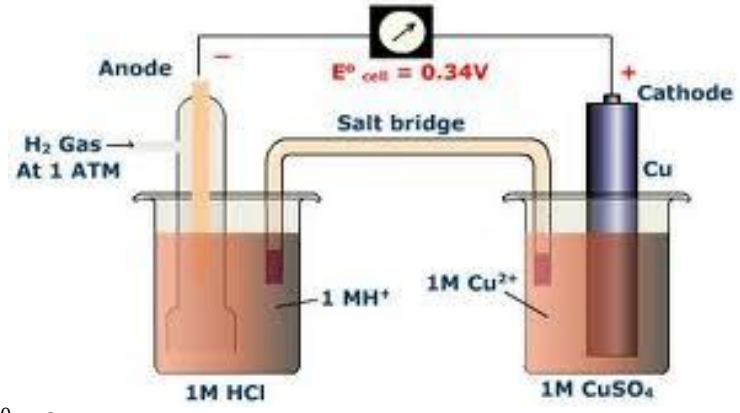
$sP_{ox} + ne \leftrightarrow qB_{red}$

$E_A = E^0_A$ في حالة التراكيز متساوية:

R=8. 316 J.mol^{-1}.deg ثابت الغاز.

F= 96500 (فاراداي)

- لا توجد طريقة لقياس فرق الجهد المطلق لقطب واحد لذلك تستخدم قطب اخر تعتمد عليه وتعتبر جهد الاخير يساوي صفر وكان يستخدم سابقا قطب H وهو عبارة عن انبوب في داخلة سلك من البلاتين ويمرر غاز الهيدروجين من فتحة بجانب الانبوب.

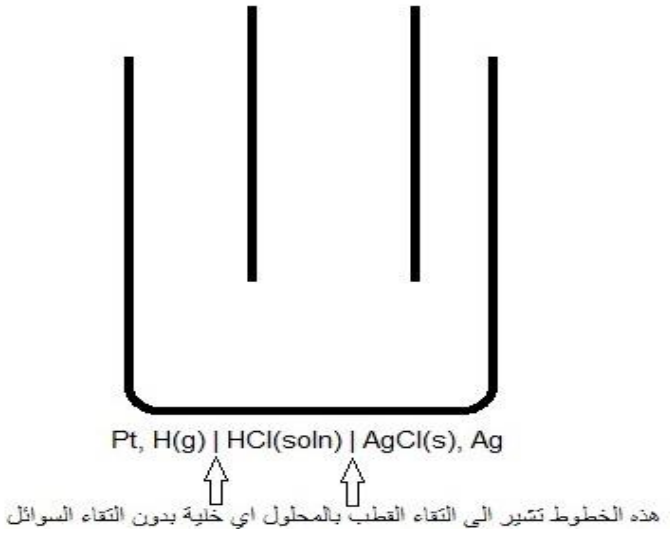


$NH_E = E^0 = 0$

شكل (2–4) قطب الهيدروجين

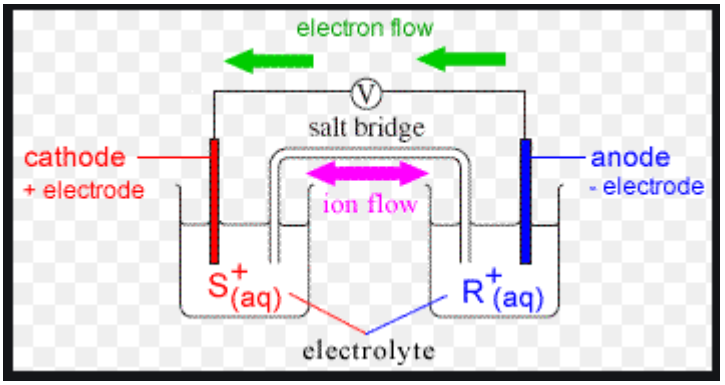
- هناك نوعين من الخلايا

1. خلية بدون التقاء السوائل تستعمل دائما للقياسات الدقيقة.



شكل (2–5) خلية بدون التقاء السوائل

2. خلية فيها التقاء السوائل بواسطة جسر ملحي. التقاء السائل بين محلولين مختلفين وذلك عن طريق جسر ملحي والغرض منه منع امتزاج المحلولين مع بعضهما، ومن مساويء هذه الخلية هو ظهور جهد نتيجة التقاء السائل.



شكل (2–6) خلية فيها التقاء السوائل بواسطة جسر ملحي

المعادلة $Ecell = E_B - E_A$ لا تصلح على هذه الخلية لان هذا النوع من الخلايا تكون جهد اضافي وهذا الجهد يتكون من عدم تساوي نفاذية الالكترونات من جهة اخرى عند نقطة التقاء السوائل.

- يفضل ان يكون الجسر الملحي من KCl لان انتقالية K^+ ‘Cl تقريباً متساوية.

$$Ecell = (E_B - E_A) + E_J$$

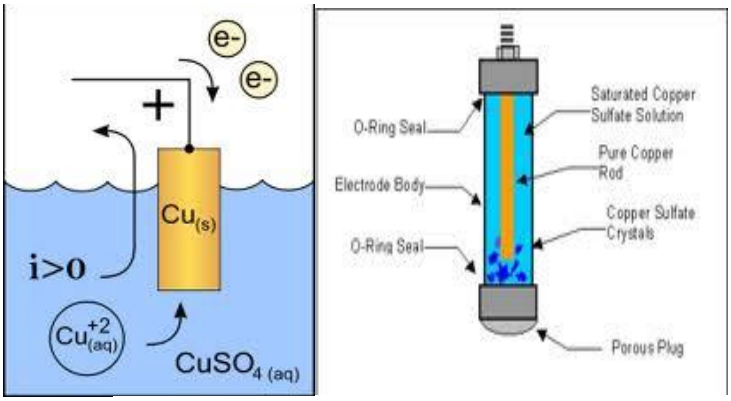
هذا الجهد liquid junction ناتج من عدم تساوي نفاذية الايونات من جهة إلى اخرى في نصفي الخلية عند التقاء السائلين، ولتقليل هذا الجهد عن طريق ابقاء تركيز الملح عاليا من جانب واحد في نقطة الالتقاء على ان تكون انتقالية ايونات الملح متساوية.

الجهد الاضافي وهو جهد التقاء السوائل اما ان يكون + أو – ويحاول جعله اقل ما يمكن.

وتقسم الاقطاب إلى اربعة انواع:

1. قطب من النوع الاول: يكون الفلز في توازن مع ايوناته

$Zn^{+2} + 2e \leftrightarrow Zn \quad E^0 = -0.765\ v$
$Cu^{+2} + 2e \leftrightarrow Cu \quad E^0 = +0.337\ v$
$Ag^{+} + e \leftrightarrow Ag \quad E^0 = +0.799\ v$



$$Cu^{2+}(aq) + 2e^- \Leftrightarrow Cu(s)$$

شكل (2–7) فلز في حالة توازن مع ايوناتة

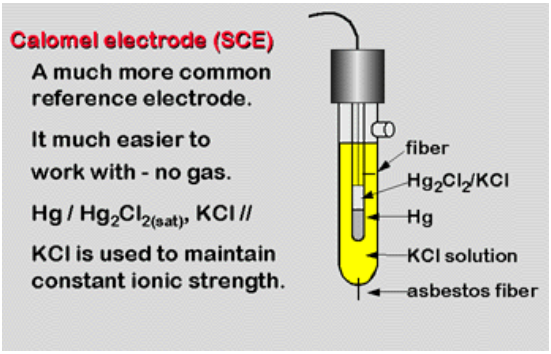
2. قطب من النوع الثاني: فلز في حالة توازن مع محلول مشبع في ملح قليل الذوبان.

$Hg_2Cl_2(s) + 2e \leftrightarrow 2Hg^+ + 2Cl^-$ (a=1) $E^0 = 0.267$ v

$Hg_2Cl_2 + 2e \leftrightarrow 2Hg^+ + 2Cl^-$ (salt KCl) $E^0 = +0.246$ v

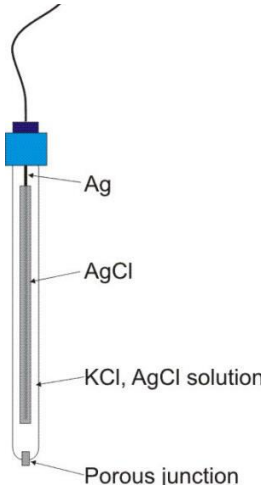
ويسمى هذا النوع بقطب الكالوميل المشبع (SCE) ويحفظ جهده لاستخدامة بكثرة (0.246 v) فالجهد القياسي يعتمد على تركيز (KCl) لذا يستعمل قطب الكالوميل كقطب قياسي لان جهده ثابت لا يتغير.

SCE = saturated calomel electrode



شكل (2–8) قطب الكالوميل القياسي

قطب الفضة المرجع Silver/Silver Chloride Reference Electrode



Schematic of a silver/silver chloride reference electrode

شكل (2-9) قطب الفضة المرجعي

- قطب كلوريد الفضة أو قطب فضة/ كلوريد الفضة Silver Chloride electrode

هو قطب عياري يستخدم أيضا كبديل لأقطاب قياسية أخرى مثل قطب كالومل المشبع ويعتبر مثلة من النوع الثاني. القطب القياسي الذي اختاره العلماء هو قطب قياسي للهيدروجين واصطلحوا على جعلة المرجع الرئيسي للأقطاب القياسية وأعطوه الجهد 0.000 فولت. بواسطة تلك الاقطاب العيارية يمكن تعيين جهد اختزال المواد، والتعرف على خصائصها الكهركيميائية.

يتكون هذا القطب من سلك من الفضة مغطي بطبقة من كلوريد الفضة ومنغمساً رأسياً في محلول يحتوي على أيونات الكلور 3Mole، أو في محلول مشبع من كلوريد البوتاسيوم. الرابطة الموصلة بينه وبين محلول الكتروليتي عبارة عن سداد مسامي سفلي للقطب مصنوع من المغنسيا. تمتلئ مسام السداد بمحلول الكتروليتي. بذلك يجري تيار ضعيف من الأيونات يكفي لتحقيق حالة توازن لتفاعل أكسده- اختزال على سطح القطب. يستعمل فولتمتر ذو مقاومة عالية لقياس الجهد بحيث يخفض سريان أي تيار ناشئ.

- مبدأ عمله:

يعمل قطب كلوريد الفضة كتفاعل أكسده- اختزال اذ يجري التفاعل بين الفضة (كمعدن نقي) مع أحد أملاحه- يكون في العادة كلوريد الفضة AgCl.

تتم التفاعلات طبقا للمعادلات الاتية:

$$Ag^+ + e^- \leftrightharpoons Ag(s)$$
$$AgCl(s) \leftrightharpoons Ag^+ + Cl^-$$

أو يمكن كتابتها في معادلة واحدة كالآتي:

$$AgCl(s) + e^- \leftrightharpoons Ag(s) + Cl^-$$

ويتحقق هذا التفاعل في محاليل يبلغ أسها الهيدروجينيpH بين 0 و5.13.

نكتب معادلة نرنست لهذا التفاعل كالآتي:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \cdot \ln\ a(\mathrm{Ag}^+)$$

اذ أن كلوريد الفضة قليل الذوبان في الماء فيمكن تعيين فاعلية أيونات الفضة عن طريق حساب جدوى الذوبان لكلوريد الفضة ومن فاعلية أيونات الكلور:

$$K_L = a_{eq}(\mathrm{Ag}^+) \cdot a_{eq}(\mathrm{Cl}^-)$$

عندما تكون تركيز أيونات الفضة Ag^+ أقل من تركيز التشبع يذوب الملح AgCl للوصول إلى حالة التشبع. وعن طريق اعتماد تركيز أيونات الفضة Ag^+ على تركيز Cl^- ينشأ جهد كهربائي ثابت على القطب، ويكون معتمداً فقط على تركيز أيونات الكلور.

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \cdot \ln\ \frac{K_L}{a(\mathrm{Cl}^-)}$$

ويمكن الآن تبسيط الشق اللوغاريتمي في المعادلة إلى الصيغة:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \cdot \ln\ K_L - \frac{RT}{F} \cdot \ln\ a(\mathrm{Cl}^-)$$

طبقاً لتلك المعادلة يبقى شق المعادلة الخاص بجدوى الذوبان ثابتا ويمكن كتابته مع E^0 للقطب في جدول:

$$E = E'^0 - \frac{RT}{F} \cdot \ln\ a(\mathrm{Cl}^-)$$

ونحصل على قيم مناسبة بين الجهدين $E^0=0.800V$ و$E'^0=0.222V$، $K_L=2\times10^{-10}$، ونستخدم كثيرا التركيز أو المولية بدلاً عن الفاعلية activity.

من هذا يتضح ان الاقطاب المرجعية ثلاثة وهي:

أ. قطب الهيدروجين وجهده صفر فولت.

ب.قطب الزئبق وجهده 0.246 فولت.

ت.قطب الفضة وجهدها 0.222 فولت.

3. **قطب من النوع الثالث:** الفلز في توازن مع ملحين قليلي الذوبان ويكون الايون السالب فيهما مشترك.

$Ag_2S_{(S)} \leftrightarrow 2Ag^+ + S^{-2}$

$CdS_{(S)} \leftrightarrow Cd^{+2} + S^{-2}$

$Ag_2S < CdS$ ذوبان

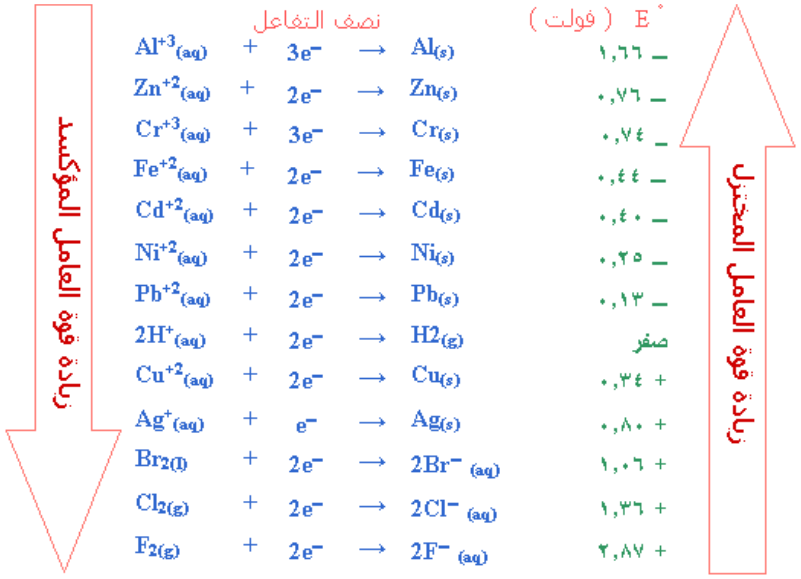
4. **قطب من النوع الرابع:** صنفان لعنصر واحد ذات تكافؤين مختلفين في تماس مع قطب خامل.

$Ce^{+4} + e \leftrightarrow Ce^{+3}\ E^0 = 1.61\ v$
$2Hg^{+2} + 2e \leftrightarrow Hg_2^{+2}\ E^0 = 0.420\ v$
$Fe^{+3} + e \leftrightarrow Fe^{+2}\ E^0 = 0.771\ v$

- عمل قطب Pt الخامل هو فقط لنقل ee من وإلى الايونين في المحلول.

$Cu^{+2} + 2e \leftrightarrow Cu\ E^0 = +0.337\ v$
$2H^+ + 2e \leftrightarrow H_2\ E^0 = 0.00\ v$
$Zn^{+2} + 2e \leftrightarrow Zn\ E = -0.763\ v$

ملاحظة: تكون E^0 سالبة بالنسبة للعناصر ذات اختزالية اعلى من H اما E^0 موجبة للعناصر التي هي عامل مختزل اقل من H.



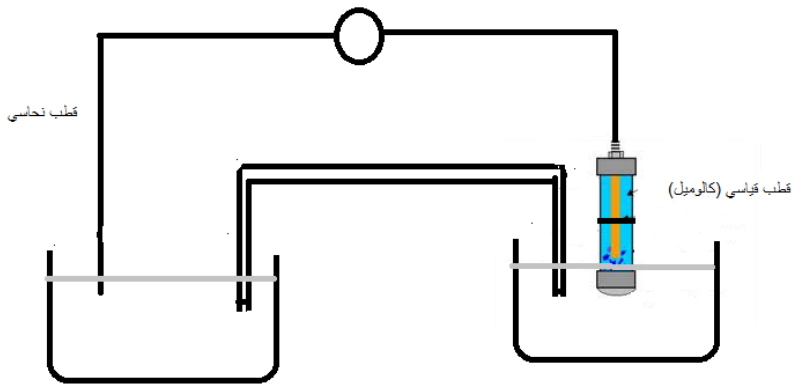
– ازدياد قابلية الاكسدة

$Cu^{+2} + 2e \leftrightarrow Cu\ E^0 = 0.337\ v$
$2H^+ + 2e \leftrightarrow H_2\ E^0 = 0.00\ v$
$Zn^{+2} + 2e \leftrightarrow Zn\ E^0 = -0.763\ v$
$F_2 + 2e \leftrightarrow 2F\ E^0 = +2.65\ v$
$Li^+ + e \leftrightarrow Li\ E^0 = -3.045\ v$

ملاحظة: كلما كان الجهد الموجب عالي اي ان المادة عامل مؤكسد قوي وكلما نزلنا في الجدول كلما قلت الاكسدة اي ان تقل إلى اقوى عامل مختزل، وكلما كان العامل المختزل والمؤكسد اضعف كلما كان التفاعل بطيء وغير تام وبالعكس.

اهم المصطلحات

الاستقطاب polarization: تكون الخلية مستقطبة اذا حصل للجهد تغير ملحوظ عند تسليط جهد على الخلية أو عند سحب تيار من القطب. وكما تكون الخلية مستقطبة بسبب الاختلاف في تراكيز المحلول المغمور فيها القطب، فالمنطقة القريبة من القطب اذا كان تركيزها يختلف عن تركيز المادة البعيدة عند القطب فينتج اختلاف في الجهد فنعمل على رج مستمر للمحلول المغمور به القطب لكي تلافي هذا التغيير.

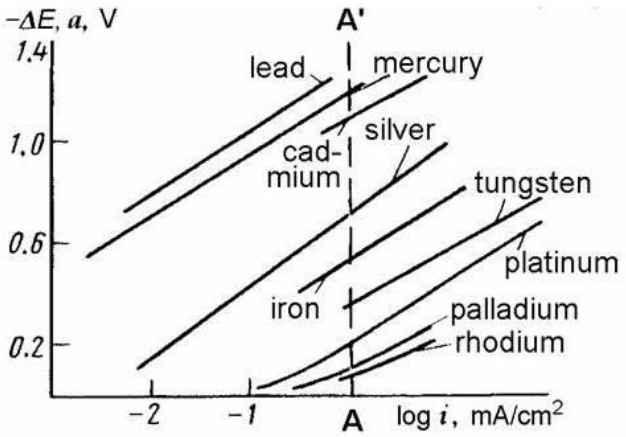


شكل (2-10) القطب المستقطب

اذ يمرر تيار بالخلية فالجهد لقطب النحاس يتغير فيسمى القطب مستقطب.

فوق الفولتية over voltage: هي القوة الإضافية اللازمة لجعل التفاعل ياخذ مجراه بشكل مقبول وقيمتها تعتمد على كثافة التيار ودرجة الحرارة والمادة المتفاعلة، اي انها الفرق بين جهد التوازن والجهد الحقيقي، فاذا كان القطب من الزئبق تكون فوق فولتية عالية لاختزال الهيدروجين اي بتحرر الهيدروجين.

فوق الفولتية للهيدروجين كبير جدا على سطح الزئبق لذلك لا يختزل ايون H^+ على سطحه ويمنع تحرره والفائدة يمكن اختزال بعض الفلزات مثل Zn, Fe على قطب الزئبق من دون تحرر الهيدروجين.



شكل (2−11) قيام فوق الفولتية للهيدروجين على سطوح عدد من الاقطاب السالبة وجميعها في محلول حامض الهيدروكلوريك 1F

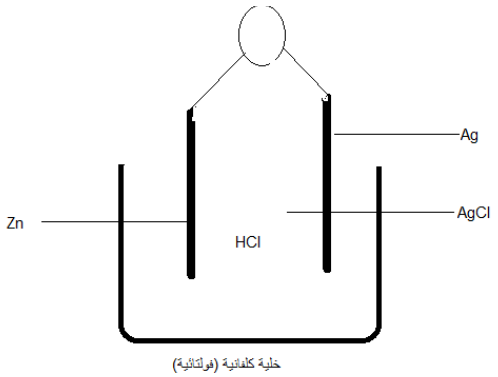
تفاعل غير عكوس: اذا كانت نواتج التفاعل لا تتفاعل مع بعضها أو تتفاعل بحيث تعطي نواتج غير المواد المتفاعلة.

تفاعل الاقطاب

$Zn \rightarrow Zn^{+2} + 2e$

$2AgCl + 2e \rightarrow 2Ag + 2Cl^{-}$

$Zn + 2AgCl \rightarrow 2Ag + Zn^{+2} + 2e$ (total reaction)



شكل (2−12) تفاعل القطب

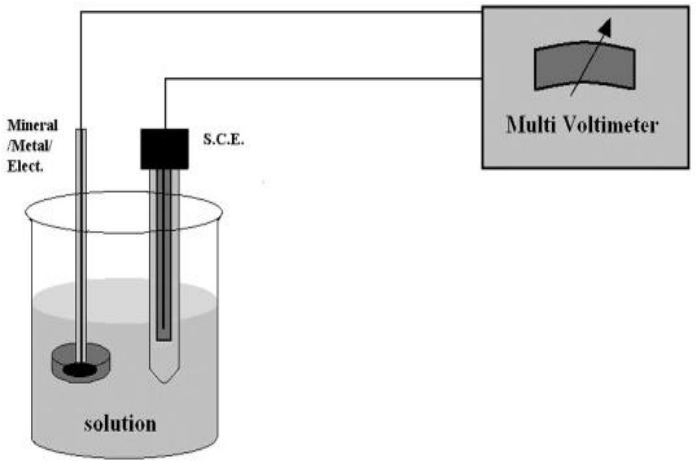
نحول الخلية الفولتائية إلى خلية الكتروليتية بتسليط تيار كهربائي لمعرفة بالامكان ارجاع كل قطب إلى ما كان عليه.

$2H^{+} + 2e \rightarrow H_2$

$2Ag^{+} + 2Cl \rightarrow 2AgCl + 2e$

$2Ag + 2H^{+} + Cl^{-} \rightarrow 2AgCl + H_2$ (total reaction)

نلاحظ ان قطب Zn غير عكوس اما قطب الفضة فهو عكوس لان Zn ينتهي بالتفاعلات اي يذوب اما قطب الفضة فيرجع ليكون AgCl.



شكل (2-13) قياس جهد القطب بشكل عام

اسئلة الفصل الثاني

1- اكتب بالرموز الكيميائية خلية مكونة من قطب الزجاج وقطب الكالوميل تستعمل لقياس pH. ثم اذكر مصادر الخطا المتوقعة من استعمال قطب الزجاج.

2- علل استجابة القطب الغشائي الزجاجي لايونات الهيدروجين.

3- يفضل إجراء التحليل الكهربائي تحت فرق جهد مسيطر للقطب العامل وضح ذلك؟

4- تكلم مع الرسم عن واحد مما يلي: قطب الكالوميل، القطب الزجاجي الغشائي؟

5- عرف مما يأتي: الجسر الملحي، الأقطاب المرجعية. فوق الفولتية، قطب العمل

6- تكلم مع الرسم قطب الفلورايد.

7- تكلم مع الرسم عن القطب الغشائي السائل.

8- عرف القطب المستقطب المثالي وغير المستقطب وما الفرق بينهما.

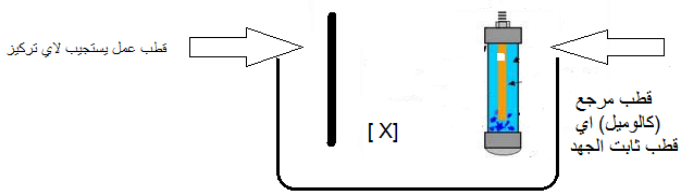
الفصل الثالث
الطرائق المجهادية Potentiometric Methods

قياس فرق الجهد potentiometry

قياسات فرق الجهد بين قطبين لخلية كلفانية في ظروف صفر من التيار توصف بالمجهادية فهي في طريق متوازن بحيث لا يكون للزمن والتيار ذو اهمية ويستخدم في قياسات:-

1. الطاقة الحرة وثابت التوازن لعدد من المحاليل.
2. التركيز والفعالية ومعامل الفعالية لعدد من المحاليل المختلفة وهذه كلها تبنى على معادلة نيرنست.

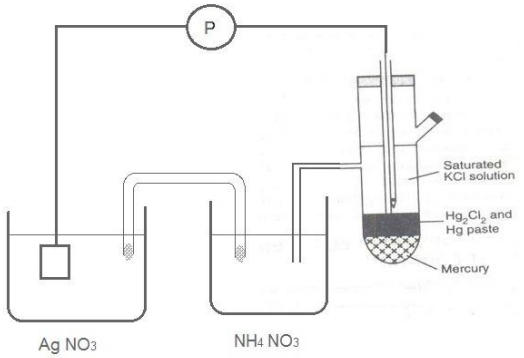
$$E = E^{o'} + \frac{0.059}{n}\log\frac{C_O^s}{C_R^s}$$



شكل (3-1) قياس فرق الجهد

نقيس جهد قطب العمل بمرور صفر من التيار لكي لا يتحول إلى استقطاب للقطب عند مرور التيار.

مثال: يتولد على قطب Ag جهد يتناسب مع تركيز $AgNO_3$ ولقياس جهد Ag نحتاج لقطب مرجع فنستخدم قطب الكالوميل. نربط القطب بجهاز لقياس فرق الجهد المتولد.



خلية كلفانية متكونة من قطب من الفضة وقطب الكالوميل المشبع

شكل (3-2) قياس جهد الفضة بالاستعانة بقطب مرجعي

- تستخدم في الجسر الملحي غير KCl لان KCl يعمل على ترسيب Ag فتستخدم NH_4NO_3.

- لو افترضنا ان مقياس الجهد اشار إلى 0.400v فما هو تركيز Ag.

الحل:-

$EAg = E^0_{Ag} + (RT/nF)\ Ln\ [Ag^+]$

$E_{SCE} = 0.246\ v$

$E_{cell} = E_{Ag} - E_{SCE} = E^0_{Ag} - E_{SCE} + (RT/nF)\ ln[Ag^+]$

$$log[Ag^+] = \frac{E_{cell} - E^0_{Ag} - E_{SCE}}{2.303(\frac{RT}{nF})}$$

اذ ان: $(RT/nF) = 0.0591$

$$log[Ag^+] = \frac{0.400 - 0.794 + 0.264}{0.0591} = 2.59$$

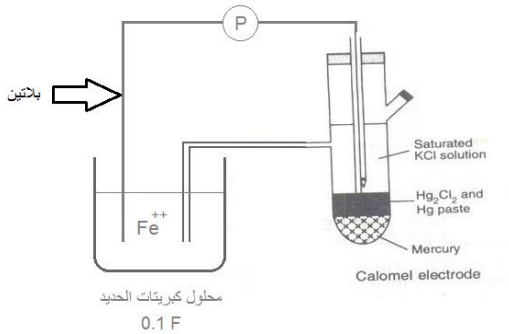
$[Ag] = anti\ log\ [-2.59] = 2.57\times10^3\ F$

ملاحظة: دائما تطرح الاكثر سالبة من الاكثر موجبة

مثال: خلية مؤلفة من قطب من البلاتين مغموس في محلول 0.1F من محلول كبريتات الحديدوز والجسر الملحي بقطب الكالوميل المشبع مغموس مباشرة في نفس المحلول. وقد لوحظ ان فرق الجهد 0.395 v بين القطبين.

المطلوب ايجاد نسبة Fe^{+2} الذي تحول بالتاكسد الهوائي إلى Fe^{+3}.

الحل:



شكل (3–3) خلية كلفانية تحتوي على قطب مرجعي

الجهد المتولد على قطب Pt يساوي:

$E - E^0_{Fe^{+3}/Fe^{+2}} + (RT/nF)ln\ ([ox]/[red])$، $[Fe^{+3}]/[Fe^{+2}]$

$E_{SCE} = 0.246\ v$

$E_{cell} = E_{Pt} - E_{SCE}$

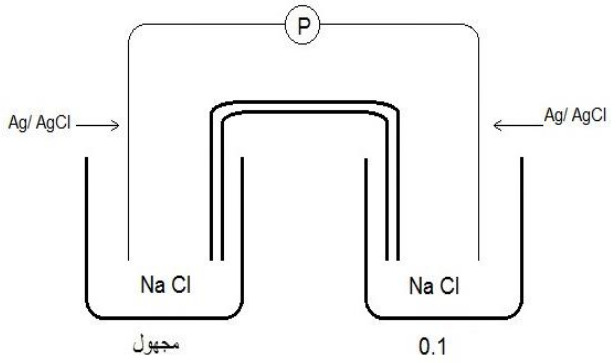
$E_{cell} = E_{Fe^{+3}/Fe^{+2}} - E_{SCE} + 0.0591\ log\ [Fe^{+3}]/[Fe^{+2}]$

$$log\frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} = \frac{E_{cell} - E\left(\frac{Fe^{+3}}{Fe^{+2}}\right) + E_{SCE}}{0.0591} = -2.2 \rightarrow \frac{Fe^{+3}}{Fe^{+2}}$$

Anti log (- 2.2) = 63 $\times 10^{-3}$ OR = 0.63%

خلية التركيز The Concentration Cell

اذا اتصل محلولين من نفس المادة وعند ربطها نحصل على فرق جهد وبذلك نقيس تركيز المحلول المجهول واذا كان تركيز المحلولين معلومي التركيز فنستطيع قياس جهد الخلية.



شكل (3–4) خلية التركيز

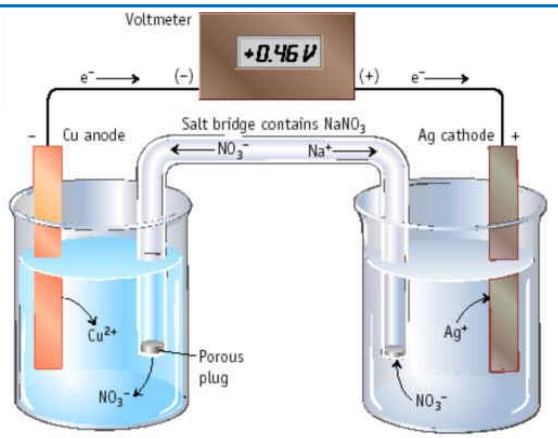
لو وضع قطبين متماثلين في بيكرين يحتويان على محلولين متماثلين في كل شيء ما عدا التركيز مربوطين بجسر ملحي فالجهد بين القطبين يعود للنسبة بين التركيزين، وتسمى هذه الخلية بخلية التركيز The Concentration Cell.

E_s = +0.222 – 0.0591log0.100= +0.281 volt القياسي

E_x = +0.222- 0.0591log 0.15 = +0.271 volt المجهول

وبطرح الواحد من الاخر نحصل على جهد الخلية الاكثر سالبية من الاكثر ايجابية.

$E_{cell} = E_s - E_x$ = 0.100 v



شكل (3–5) تأكسد النحاس في محلولة واختزال الفضة من محلولها على قطب الفضة.

$$Cu(s) \rightarrow Cu^{2+}(aq) + 2e^{-}\ (oxidation)$$

$$2Ag^{+}(aq) + 2e^{-} \rightarrow 2Ag(s)\ (reduction)$$

قياس الايون الهيدروجين (الدالة الحامضية pH)

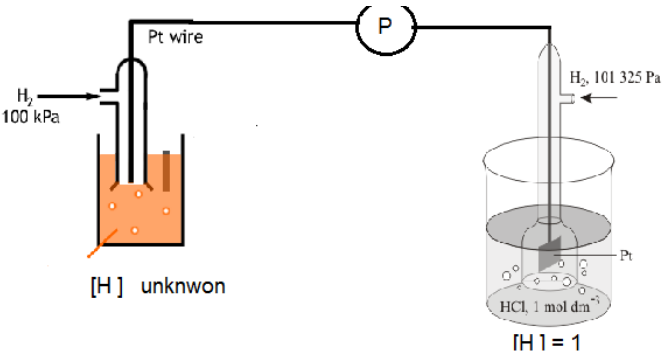
احدى التحاليل الخاصة التي تتضمنها طرائق قياس الجهد هو تقدير ايون الهيدروجين اذ نستخدم في الخلية قطبين من قطب الهيدروجين القياسي.

$$pH = -\log[H^{+}]$$

g/ ion. L^{-1} (غرام/ ايون في اللتر).

$$E_{cell} = 0.0591\ log\ \frac{[H^{+}]_{std}}{[H^{+}]_{unk}}$$

$$pH = \frac{E_{cell}}{0.0691}$$



شكل (3–6) قياس تركيز الهيدروجين والدالة الحامضية بواسطة قطب الهيدروجين القياسي

- نقيس هكذا في حالة استخدام قطب الهيدروجين كمرجع اما اذا استخدم قطب الكالوميل كمرجع فتصبح المعادلة:

$$pH = \frac{E_{cell} - 0.246}{0.0591}$$

ملاحظة: يستخدم في معظم الاحيان قطب الكالوميل كقطب قياسي لان قطب الهيدروجين له مساويء فيما يجب المحافظة على الضغط والتركيز أو يستعاض بأقطاب حساسة لايون الهيدروجين. ومنها:-

انواع الاقطاب

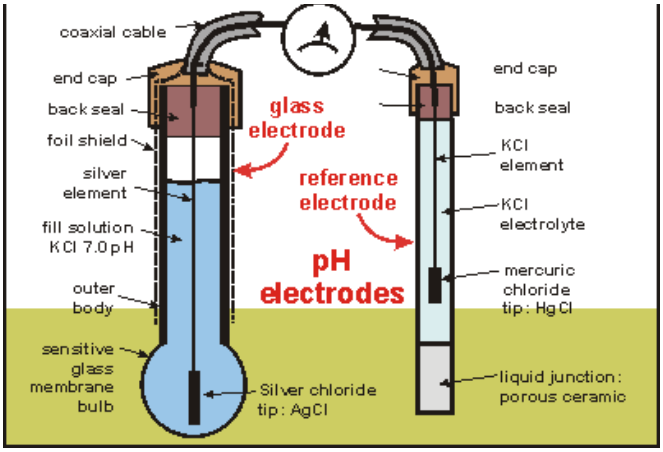
توجد ثلاثة انواع من الاقطاب الغشائيةهي:

1. الاقطاب ذات الغشاء الزجاجي glass membrane electrode وهو احد انواع الاقطاب مختارة الايونات ومنها الاقطاب الغشائية مختارة الايونات Ion selective membrane electrode
2. الاقطاب الانتقائية ذات الأغشية السائلة liquid membrane electrode.
3. الاقطاب الانتقائية ذات الأغشية الصلبة solid membrane electrode.

- جميع هذه الاقطاب تشترك بصفة التبادل الايوني وتكون من قطب الهيدروجين وغشاء داخلي.

النوع الاول

يقيس هذا النوع من الاقطاب إلى حد pH 10→2 وخارج هذا المدى يكون القياس فيه خطأ حامضي اقل من 2 وخطأ قاعدي اكثر من 10.



شكل(3-7) قطب الغشاء الزجاجي لقياس الدالة الحامضية للمحلول

الغشاء الزجاجي نوع soft glass يتكون من المواد الاتية:-

Na_2O 22%
CaO 6%
SiO_2%72

$H^+_{soln} + Na^+ Cl\ (solid) \leftrightarrow Na^+_{soln} + H^+ Cl\ (solid) \rightarrow$ silica gel

المحلول الخارجي	External solution $[H^+] = a_1$	Hydrated gel $\leftarrow 10^{-4}$ mm	Dry glass 0. $\leftarrow$1mm$\rightarrow$	Hydrated gel $\leftarrow 10^{-4} \rightarrow$	Internal solution $[H^+] = a_2$	المحلول الداخلي

يحدث للغشاء الزجاجي تميؤ لانه يحيط بمحلول من الخارج ومن الداخل وتكون طبقة التميؤ تسمى هلام هايدريت(hydrated gel) وان الطبقة الداخلية توجد طبقة زجاج جاف ذات سمك معين وتحوي في تركيبها على ايونات Na^+،K^+ وهذه الايونات تكون ثابتة، لكن هذه الايونات في الطبقة الداخلية والمحاطة بالمحلول والطبقة الخارجية المحاطة بمحلول ايضا تكون قابلة للتبادل مع ايونات H^+. سوف يكون فرق جهد بين الطبقة الخارجية والطبقة الداخلية يسمى بالجهد الحدودي boundary potential.

$$V_1 = K_1 + \frac{RT}{F} ln \frac{a_1}{a_1^-}$$

$$V_2 = K_2 + \frac{RT}{F} ln \frac{a_2}{a_2^-}$$

$E_b = V_1 - V_2$ $[H^+]$ الخارجي

$$E_b = \frac{RT}{F} ln \frac{a_1}{a_2}$$ $[H^+]$ الداخلي

K معامل الانتقائية، a_1^- ،H^+ a_2^- فعالية ايون في كل من طبقتي الجل الملامسة إلى المحلولين، a_1،a_2 فعالية ايون H^+ في المحلولين وعادة ما تكون a_2 ثابتة.

$$E_b = constant + \frac{RT}{F} ln\, a$$

- يكون انتقال التيار والتوصيل خلال طبقة الزجاج الجاف ايونيا.

$$H^+ + Gl \leftrightarrows H^+ + Gl$$

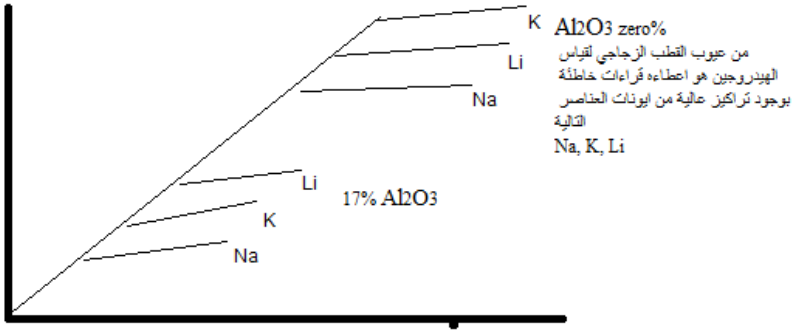
خلال طبقتي الهلام بواسطة كل من ايونات القلوية وايونات H^+ وبين السطح البيني بين الهلام والمحلول يكون اتجاة الانتقال من الهلام إلى المحلول الاول ومن المحلول إلى الهلام عند الاخر.

$$H^+ + Gl \leftrightarrows H^+ + Gl$$

- ينشأ جهد الانتشار من خلال اختلاف ايون H^+ وايونات الفلزات القلوية في الغشاء ويكون جهد الانتشار متساويين ومختلفين بالاشارة وتساوي صفر.

ويكون السطح الداخلي والخارجي للزجاج غير متماثل تماماً لذا يتولد فرق جهد بين السطحين. يسمى جهد عدم التماثل asymmetry potential إلى جانب هذا توجد اخطاء منها الخطأ القاعدي. يتحسس القطب ايونات Na^+،K^+ بالاضافة لـ H. اذا كانت pH 0. 0 فان المحلول الخارجي والداخلي صفر.

- لمعرفة هل ان القطب يقيس بصورة جيدة ام لا نعمل عن غمر القطب في محاليل ذات pH متدرجة وعند رسم الخط البياني يجب ان يكون خطاً مستقيماً اي ان القطب يقيس بصورة مضبوطة وان قياس القطب غير المضبوط يعزى إلى المواد والتي تدخل في تركيب الزجاج. مثلا اذا كانت نسبة Al_2O_3 17.4% فان القطب لا يتحسس H بل يتحسس ايونات Na،Li, K عند pH 2.



شكل (3–8) اختبار دقة القياس لقطب الهيدروجين

مثلاً اذا كانت نسبة غشاء الزجاج 60% SiO_2 25% Al_2O_3 15% Li_2O_3 يكون حساس لايونات Li، اما اذا كانت 68% SiO_2 5% Al_2O_3 27% Na_2O يكون حساس لايونات K، 71% SiO_2 18% Al_2O_3 11% Na_2O حساس لايونات Na، 28.8% Na_2O 52.1% SiO_2 19.1% Al_2O_3 حساس لايونات Ag.

اذن يجب اجراء تصحيح لمعادلة نيرنست عند استعمالها لهذه الاقطاب.

$$E = constant + \frac{RT}{F} ln[(H^+) + K_1(Na^+) + K_2(K^+)]$$

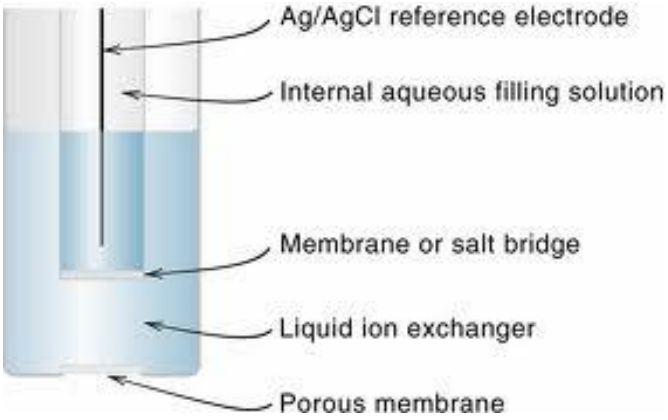
اذ K_1،K_2 ثابت الانتقائية (selectivity constant) اذا كانت K_1 K_2 صغير فان Na،K تصبح قريبة من الصفر فيصبح القطب حساس للهيدروجين واذا كانت K_1, K_2

كبيرة فيكون القطب غير جيد لانه سيتحسس K, Na, H فيجب ان يكون القطب انتقائي، اي فقط يتحسس لايون واحد.

النوع الثاني: الاقطاب ذات الغشاء السائل

القرص الناضح يكون مشبع دائما بالسائل المبادل الايوني يتضمن المحلول المائي الداخلي على الايونات المراد قياسها وترمز له MCl_2 اذ اغلب الايونات المراد قياسها ذات شحنة مزدوجة.

تعود استجابة القرص الناضح للجهد المتكون عبر الغشاء. والقرص هو قرص بلاستيكي طارد للماء (hydrophobic filter). تكون جاهزا بين الالكتروليت الداخلي والخارجي.



شكل (3-9): الاقطاب ذات الغشاء السائل

الانبوب الداخلي يحتوي على محلول قياسي MCl_2 ويكون القرص في تماس عند محيطة بمذيب عضوي لا يختلط مع الماء وغير متطاير، ويكون هناك توازن بين هذا السائل والسائل المراد تقديره حسب المعادلة:-

$$RH_2 + M^{+2} \leftrightarrows RM_x + 2xH^{+2}$$

الطبقة المائية +الطبقة العضوية ⇆الطبقة المائية +الطبقة العضوية

- **المبادل الايوني**

هو استر ثنائي اليفاتي لحامض الفسفوريك مذاب في مذيب قطبي والتبادل المتكون عبر كل سطح يكون كما يلي:-

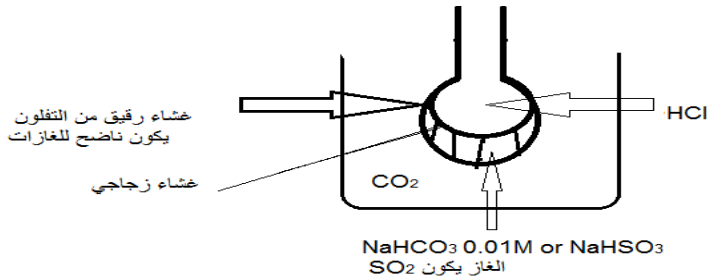
$$[(RO)_2POO]_2Ca \leftrightarrows 2(Ro)POO^- + Ca$$

مائي عضوي.

يتولد فرق جهد بين المحلول الداخلي والقرص V2 وبين المحلول سائل المبادل الايوني والقرص V1

$$E = L + \frac{0.0591}{2} loga_1$$

- يكون هذا القطب قطب انتقائي اذ اي ايونات توجد بتركيز عالي يكون حساس لذلك الايون مع تأثر أو تحسس قليل بالايونات الاخرى.
- الاقطاب ذات الأغشية الثنائية (ثنائية أو مزدوجة الأغشية) double –membrane electrode لقياس الضغط الجزئي لغاز CO_2 المذاب في بلازما الدم أو غيره من السوائل يمكن ان يقاس بقطب زجاجي مغطى بغشاء رقيق من التفلون Teflon أو غيره من البوليمرات الناضحة للغازات.



شكل (3–10) قطب ثنائي الغشاء

ان التغير pH في محلول $NaHCO_3$ يمكن ان يتحسس بالقطب الزجاجي.

- اذا كان الغشاء الثاني يتكون من طبقة من الجلاتين تحتوي على انزيم هذا يتحسس لايون الامونيوم في القطب الزجاجي المغموس في اليوريا.

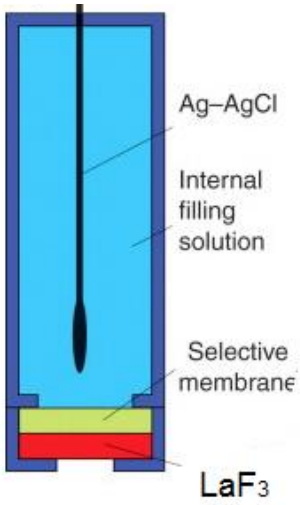
النوع الثالث: الاقطاب ذات الأغشية الصلبة solid state membrane electrode

الغشاء المستخدم عبارة عن قرص من مادة متبلورة واحسن قطب هو قطب الفلورايد كمثال على قرص (wafer or pellet) ويتكون من مادة متبلورة كغشاء، والغشاء يتكون من بلورة احادية من غشاء LaF_3 هذا القطب يستعمل لقياس ايونات الفلورايد وعند عمل back titration يتم الاستطاعة قياس ايونات La تكون الشبكة البلورية فيها ايونات F^- حرية الحركة خلال هيكل غير متحلل من ايونات La يقيس القطب تركيز F.

$$E = K - \frac{RT}{F} ln[F^-]$$

- يمكن ان يكون الغشاء كبريتيد الفضة (متعدد البلورات) يكون حساس لكل من ايونات Ag^+ S^{-2} إلى حدود (10^{-14}–10^{-20} M) ويسمى هذا القطب (قطب الكبريتيد).

- احيانا تمزج مع Ag_2S كمية من AgCl وتسخن المادتين وتكون القطب. ان ايونات Ag^+ ممكن ان تتحرك بالقالب الصلب ولكن هذه المواد اكثر ذوبانية من S^{-2}.



شكل (3-11) الاقطاب ذات الأغشية الصلبة

$^-Ag_2S + AgCl \mid Cl$
$^-Ag_2S + AgI \mid I$
$^-Ag_2S + AgBr \mid Br$

اكثر ذوبانية. وهنا نريد ان نبرهن ان القطب بما انه حساس للفضة لكنه يقيس هذه الايونات ومنها Cl^-.

$$E = K + \frac{RT}{F} ln[Ag^+]$$

$[Ag^+][Cl^-] = ksp$

$$[Ag^+] = \frac{ksp}{[Cl^-]}$$

بالتعويض:

$$E = K + \frac{RT}{F} \ln \frac{ksp[AgCl]}{[Cl^-]}$$

وبهذه الطريقة تم اكتشاف طريقة لقياس الهالوجينات (Br, I, Cl) وكذلك يمكن ايجاد طريقة لقياس الايونات عندما يوجد قطب يتكون من ملحين احدهما اكثر ذوبانا من الاخر. $E = K - \frac{RT}{F} ln[Cl^-]$

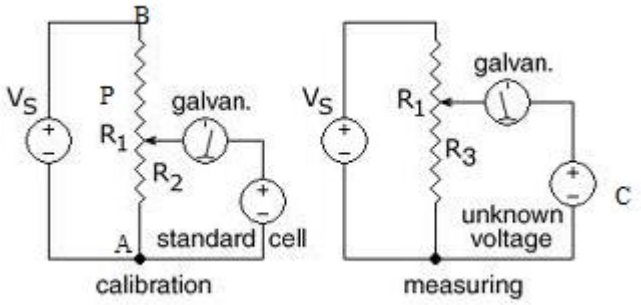
$Ag_2S + CaS \rightarrow Cd^{+2}$ اي يقيس ايونات
$Ag_2S + PbS \rightarrow Pb^{+2}$
$Ag_2S + CuS \rightarrow Cu^{+2}$

$$E = K + \frac{RT}{2F} ln[Pb^{+2}]$$

التسحيحات المجهادية potentiometric titration

جميع الاقطاب التي تم دراستها توضع في محلول مع قطب الكالوميل. جهود الاقطاب لا يمكن ربطها بفولتميتر (هذا غير مناسب) لان الفولتميتر سوف يسحب قسما لا يستهان به من التيار الداخل إلى الخلية فتؤدي إلى تغير تركيز الايونات المراد قياسها فنستخدم جهاز اخر يسمى potentiometer، اذ يكون القياس في هذا الجهاز الاخير بحدود zero للتيار اي تدخل الخلية تيار معاكس لتيار الداخل للخلية فتتولد فولتية من الخارج مساوية لفولتية الداخل، فلا يدخل تيار اي zero current.

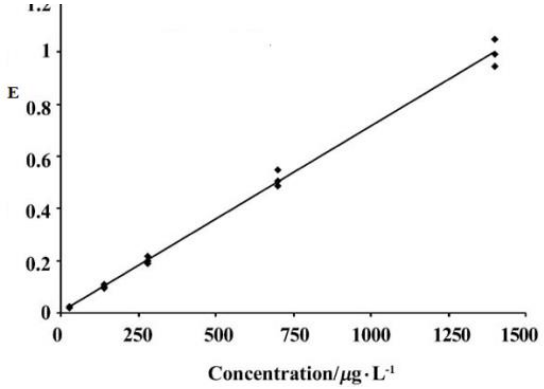
جهاز قياس فرق الجهد المبسط



شكل (3-12) قياس فؤق الجهد

يتكون من بطارية ترسل تيار خلال السلك الذي يتصل بالمقاومة المتغيرة R ويثبت موقع R إلى ان يكون التيار المار هو القيمة الصحيحة التي تسبب اختبار الجهد وليكن 2V عبر نهايتي هذا السلك.

ولقياس جهد خلية مجهولة C نربط على التوازي مع كلفانوميتر حساس (G) بين A والملامس (contact) المنزلق على السلك. ان الملامس يتحرك على طول السلك إلى ان تتضح النقطة التي لا تعطي الكلفانوميتر فيها اي انحراف عندئذ يجب ان يكون الفرق في الجهد بين A أو P هو نفسه لجهد الخلية ويمكن ان يقدر لقياس المسافة بين AP وكيفية معرفة مول حساسية القطب لقياس التركيز للمحاليل؟

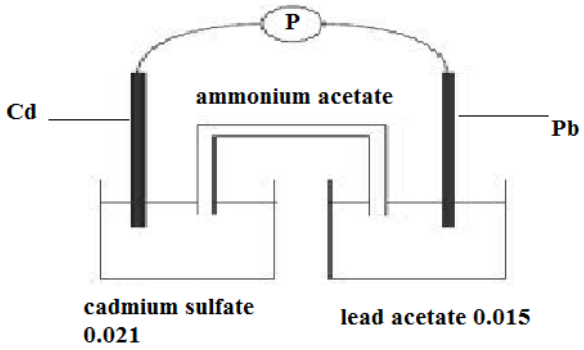


شكل (3 – 13) منحني التركيز مقابل الجهد

عندما تعطي خط مستقيم فان التراكيز قياسية للقياس وعندما يبدأ المستقيم بالانحناء فان التراكيز تكون مناسبة.

مثال: خلية فولتائية متكونة من قطب رصاص مغموس في محلول خلات الرصاص ذي تركيز 0.01 F وقطب الكاديوم مغموس بكبريتات الكاديوم كلا المحلولين موصلان بجسر ملحي يحتوي على نترات الامونيوم. ما جهد الخلية في درجة 20 درجة مئوية اذا اعتبرت معامل الفعالية في كلا المحلولين متساوية.

ملاحظة: لا تستخدم KCl في الجسر الملحي لان KCl يرسب Pb.



شكل (3-14) خلية كلفانية

$$E_{Pb} = E^0_{Pb} + \frac{0.0591}{2}\log[0.015]$$

Log 0.015 = - 1.82

Log 0.021= - 1.62

$$E_{Cd} = E^0_{Cd} + \frac{0.0591}{2}\log[0.021]$$

E_{Pb} =- 0.021+ (0. 0295)(- 1.82) =- 0.180 V

E_{Cd} =- 0.4050+ (0. 0295)(- 1.68) =- 0.451 V

$E_{cell} = E_{Pb} - E_{Cd} = -0.182 - (-0.451) = +0.273\ V$

مثال: قطبين احدهما قطب H والاخر كالوميل وبينهما فرق جهد يساوي 0.703 فما هو pH لذلك المحلول؟

$$pH = \frac{E_{cell} - 0.246}{0.0591}$$

$$pH = \frac{0.703 - 0.246}{0.0591} = 7.73$$

مثال: ركبت خلية من قطب فضة، محلول مجهول جسر ملحي مشبع KCl، Hg_2Cl_2 قطب زئبق.

أ- ما جهد القطب الذي يعتبر قطب مرجعي؟ وما القطب الكاشف؟

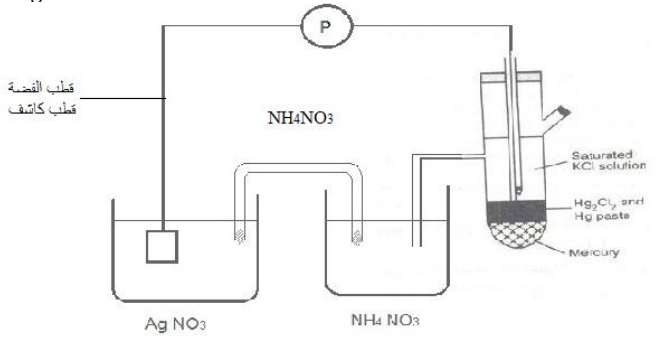
ب- ما فائدة الجسر الملحي؟ أو ما الالكتروليت الذي يجب ان يحتويه؟

ت- اذا كان جهد الخلية هو 0.300 V مع قطب الفضة اكثر موجبيه من الزئبق.

$$E_{Ag} = E^0_{Ag} + \frac{RT}{F}\ln[Ag^+]$$

$E_{SCE} = 0.246$

$E_{cell} = E_{SCE} - E_{Ag}$

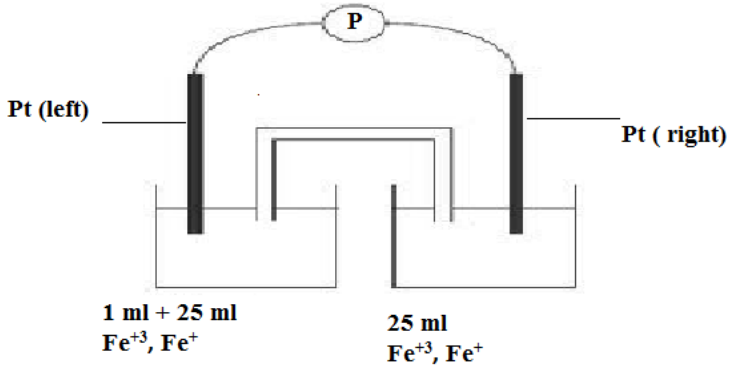


خلية كلفانية متكونة من قطب من الفضة وقطب الكالوميل المشبع

شكل (3-15) خلية كلفانية

مثال: ركبت خلية من سلكين من البلاتين كقطبين مغموسين في وعائين منفصلين مربوطين بجسر ملحي وكل وعاء يحتوي على 25.0 مللتر من مزيج من ايونات Fe^{+2}, Fe^{+3} وكان تركيز كل ايون (1F) والان وضع 1.0 مللتر من محلول مختزل إلى احدى الجهتين، اذ يتغير الجهد من الصفر إلى 0.026 فولت. احسب عيارية المادة المختزلة.

الحل: المحلول المختزل قام بتحويل كل أو جزء من $Fe^{+3} \leftarrow Fe^{+2}$ باذ ان نفس الكمية المختزلة Fe^{+} = نفس الكمية المتاكسدة لـ Fe^{+3} .



شكل (3–16) خلية التركيز

$[Fe^{++}] = [Fe^{+++}] \times C = 1F$

$E_{left} = E^0 + 0.0591 \log [Fe^{+3}]/[Fe^{+2}]$

$E = E^0$

$E_{right} = E^0 + 0.0591 \log C- X/C+X \Rightarrow 0.0260 = E_{left} - E_{right}$

$0.0260 = 0.0591 \log (C+X)/ (C- X) = 0.4$

C= concentration of Fe^{+2}

X= هو المختزل.

اسئلة الفصل الثالث

اكتب بالرموز الكيميائية خلية مكونة من قطب الزجاج وقطب الكالوميل تستعمل لقياس pH. ثم اذكر مصادر الخطا المتوقعة من استعمال قطب الزجاج.

1- علل استجابة القطب الغشائي الزجاجي لايونات الهيدروجين.

2- تكلم مع الرسم عن القطب الغشائي السائل

3- تكلم مع الرسم قطب الفلورايد

4- عدد فقط اهم التطبيقات العملية لمعادلة نيرنست

6– ناقش بالتفصيل مبادىء وتركيب القطب الزجاجي

7– اشرح معادلة نيرنست وكيفية قياس حدود الكشف ومدى الاستجابة من خلال منحنى المعايرة

8– كم عدد الاقطاب المرجعية المناسبة لقياس الجهد وناقش واحد من هذه الاقطاب.

9– احسب جهد القطب القياسي لهذه الخلية E_{CELL}.

$pH/H_2/H^+(a=1\ mole/l)//\ Zn+2(a=\ 1\ mole/l)/Zn$
$E_{Zn/Zn^{2+}} = -0.7628\ V$

10- اكتب المعادلة التي تطبق على اقطاب مختارة الايونات واشرح كل حد فيها.

11- وضع قطب الهيدروجين وقطب الكالوميل في محلول مائي وكان فرق الجهد يساوي V 0.602 :

a- ما pH المحلول

b- ما طبيعة المحلول

12- ناقش بايجاز ميكانيكية قطب الزجاج.

13- في تسحيح الحديد (II) باستخدام طريقة الجهد التفاضلية بتيار تحلل كهربائي مقابل السيريوم الرباعي كعامل مؤكسد اعطت النتائج الاتية:

ml	mv	ml	mv	ml	Mv
00 .2	50	60 .9	410	75 .10	400
00 .4	50	80 .9	740	00 .11	365
00 .6	50	00 .10	705	00 .12	300
00 .8	100	25 .10	515	00 .14	250
00 .9	155	50 .10	460	00 .16	205
40 .9	205				

ا- ارسم عدد الملي فولتات مقابل حجوم السيريوم (IV) المضافة.

ب- ما حجم محلول السيريوم الذي يشير إلى نقطة النهاية.

ج- ما الخطوات الازمة لحساب تركيز مجهول من الحديد الثنائي

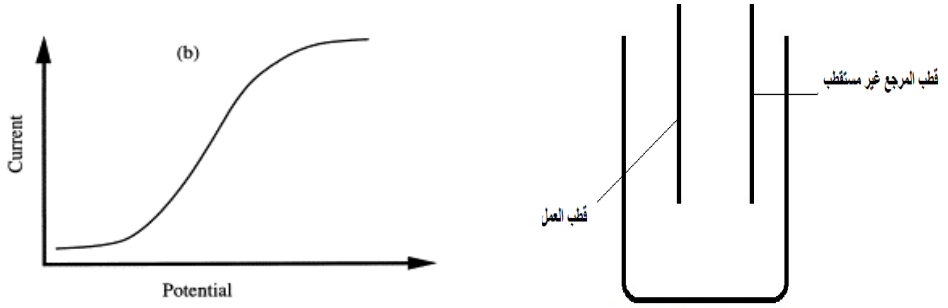
د- بين التفاعل الكيميائي الحاصل بمعادلة كيمياوية.

الفصل الرابع
الفولتامتري والبولاراكرافي voltammetry and polarography

مقدمة:

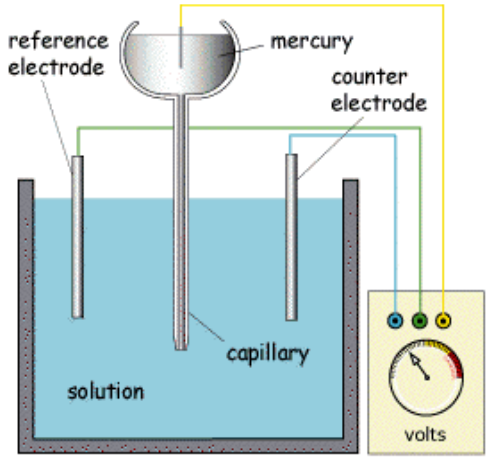
يعتمد التحليل الاستقطابي (البولاروكرافي polarography analysis) على رسم المنحنيات الفولت أمبيرومترية باستخدام مسرى من الزئبق وخصوصاً مسرى الزئبق المتقطر، وتسمى هذه المنحنيات بالموجات الاستقطابية polarographic waves ويمتاز مسرى الزئبق القطّار من غيرة من المساري بأن جهد إرجاع البروتون عليه كبير جداً بالقيمة السالبة مما يتيح إرجاع عدد كبير من الايونات المعدنية. وتحدد النوعية في التحليل الاستقطابي عن طريق معرفة جهد نصف الموجة $E_{1/2}$، وتحدد الكمية عن طريق معرفة تيار النفوذ الإشباعي id المتناسب مع التركيز. ويشتمل التحليل الاستقطابي على عدد كبير جداً من الطرائق تختلف باختلاف طريقة التحديد المستخدمة.

وهي طريقة من طرائق التحليل الكهربائي: كانت الاقطاب في الخلايا السابقة اقطاب غير مستقطبة اي لا يمر تيار، اما هنا في هذه الطريقة يتم مرور تيار كهربائي خلال الخلية بحيث تستخدم قطبين احدهما قطب مرجع والاخر قطب العمل. بحيث يكون قطب المرجع غير مستقطب اي جهده ثابت، اما قطب العمل فيكون مستقطب اي جهده متغير عند تسليط جهد خارجي على الخلية وهنا الجهد يكون تدريجي.



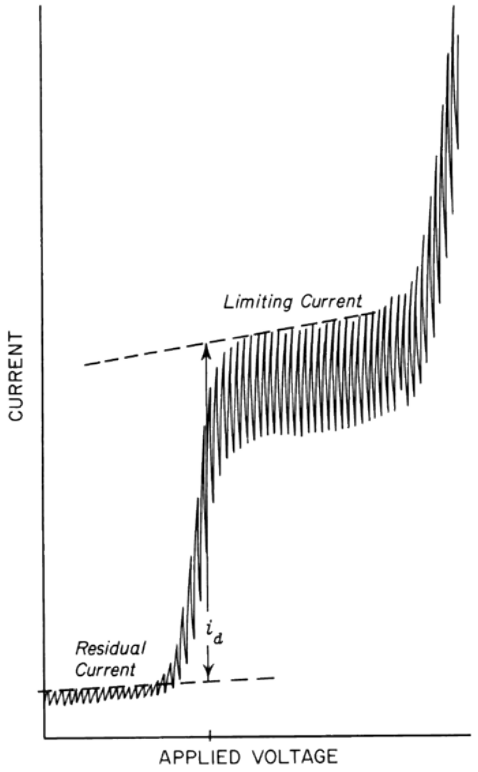
شكل (4-1) منحني التيار والفولتية

قطب العمل قد يكون Pt، C أو Hg فاذا كان القطب من Hg فيسمى (dropping Mercury EI) القطب البولاراكرافي اما اذا كان صلب أو جيلاتيني فيسمى فولتامتري اي مكون من C أو Pt أو ملغم Hg ، ويقاس التيار دالة للجهد المبذول والزمن.



شكل (4–2) مخطط لخلية البولاراكرافي الزئبقي

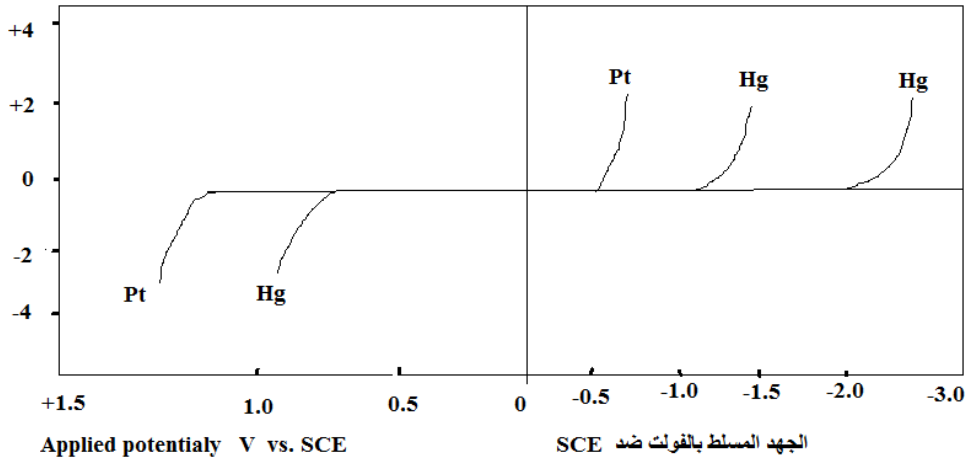
القطب المرجع من (saturated calomel reference electrode)



شكل (4–3) منحي تيار فولتية لخلية بولاراكرافية زئبقية

- التقدير النوعي البولاراكرافي: يتم من خلاله معرفة في اي جهد يتم فيه تأكسد أو اختزال المادة اي تعيين جهد نصف الخلية ($E_{1/2}$).

ملاحظة: ان اختيار القطب يعتمد بصورة كبيرة على حدود الجهود المراد دراستها فالجهود الاكثر ايجابية من قطب المرجع (SCE) فافضل قطب هو البلاتين (شكل 4-4).



شكل (4-4) حدود الجهود

- عند استخدام Hg كقطب لا تستطيع جهد اكثر من 0.25 V لان عند تسليط اعلى فان قطب Hg يذوب كآنود بينما قطب البلاتين Pt فنستطيع تسليط جهد عالي مقداره 0.65 V ضد قطب SCE حيث عند هذا الجهد تحدث اكسدة للمادة محررة الاوكسجين

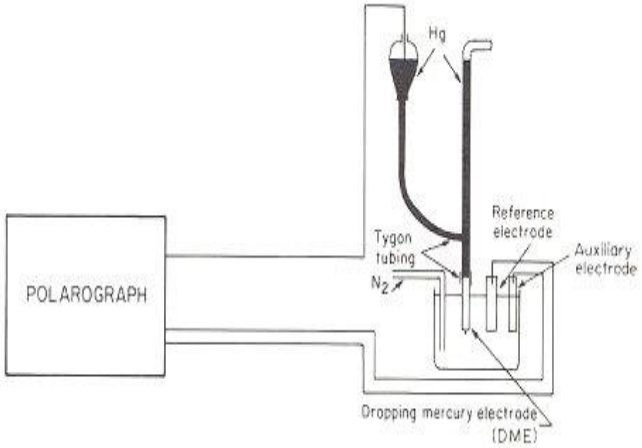
$$2H_2O \rightarrow 4H^+ + O_2 + 4e^-$$

- مجال استخدام Hg اوسع وذلك لوجود ظاهرة فوق الفولتية اذ Hg فوق فولتية عالية يتحرر H_2 فتتراوح في الجهود السالبة.

(محيط قاعدي) 2.8 −→ − 1.8 (محيط حامضي)

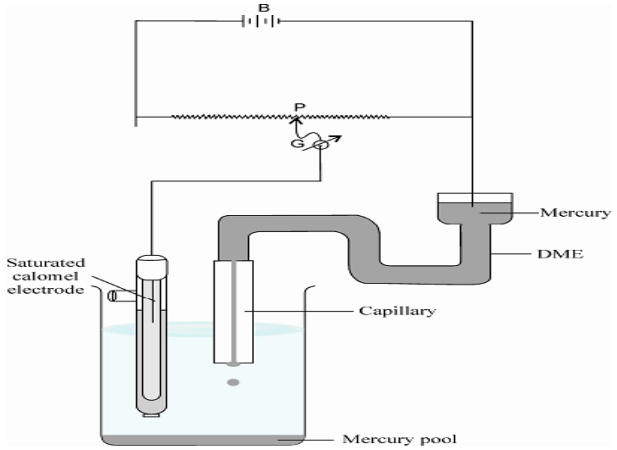
* للجهود السالبة يمكن استعمال البلاتين حوالي −0.45 V والذي عندها يتحرر غاز الهيدروجين − 0.45 V vs. SCE.

* يتم التقدير بالبولاراكرافي اي مادة عضوية أو غير عضوية بحيث تكون المادة قابلة للاكسدة أو الاختزال.

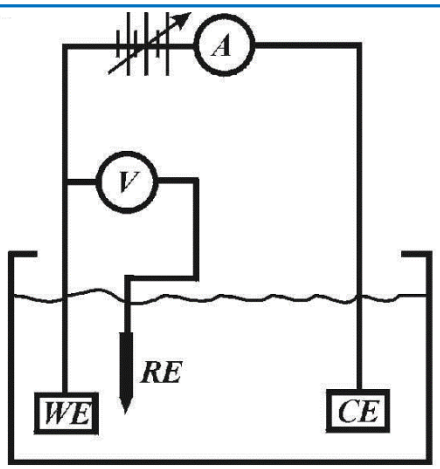


شكل (4–5) قطب الزئبق المتقطر Dropping Mercury Electrode

- في بعض الاحيان يضاف قطب مساعد الذي يقوم بحمل التيار لان استعمال قطب الكالوميل سوف يستقطب في حالة مرور تيار لذلك يقوم القطب المساعد على حمل التيار المار وان يكون لقطب الكالوميل ذو مقاومة عالية والتي تكون عادة خطأ مقداره 10 mv والتي تنتج من تيار قدرة 10 MA والناتج من مقاومة 1000 اوم وكذلك يجب ان يكون سطح قطب المرجع كبير عكس سطح قطب العمل الذي يجب ان يكون صغير حتى تكون الكثافة التيارية عليه عالية ويكون عكس قطب المرجع فان كثافة التيار واي تأثيرات استقطابية ناتجة اقل.
- القطب المساعد يمكن ان يكون في حوض من Hg أو سلك من البلاتين ويمكن ان تكون الحلية البولاراكرافية محتوية على قطبين أو ثلاثة اقطاب مع ملحقاتها.



شكل (4–6) خلية بولاراكرافية من قطبين

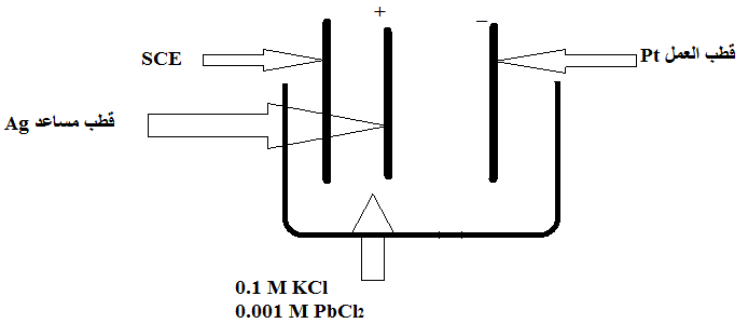


شكل (4–7) الدائرة الالكترونية لخلية بولاراكرافية من ثلاثة اقطاب
القطب المساعد (Auxiliary Electrode)

اسس التحليل البولاراكرافي:

في عملية البولاراكرافي يتم امرار تيار وهذا التيار يتناسب مع تركيز المادة.

ملاحظة: يتم تخليص المحلول من الهواء ثم يتم تسليط فولتية بحيث تكتسب الاقطاب شحنات مختلفة.



شكل (4–8)

مثال: لو سلطنا 1V على محلول يحتوي كل من كلوريد البوتاسيوم وكلوريد الرصاص فان هذه الفولتية كافية لاختزال ايونات الرصاص ولكنها غير كافية لاختزال ايونات البوتاسيوم.

$Pb^{++} + 2e \rightarrow Pb$

$K^{+} + e \rightarrow K$

تيار التنافذ والانتشار المحدد Limiting Diffusion Current

في المثال السابق. بما ان قطب Pt سالب فينجذب الية ايونات K الموجبة وهذه الايونات تحيط بايونات الرصاص Pb وان ايونات Pb تختزل فتركيزها يقل بينما ايونات K تبقى ثابتة التركيز فتكون طبقة ضباب على قطب Pt والتي تبقى ذات شحنة موجبة فتعادل المجال الكهربائي للقطب فهذه الايونات تتبع طريقتين للوصول إلى قطب البلاتين.

1. بواسطة التجاذب أو التنافر الالكتروستاتيكي.
2. بواسطة التنافذ من المنطقة ذات تركيز عالي إلى الواطيء.

عند انتقال الايونات بسبب التجاذب أو التنافر الالكتروستاتيكي يقل معها تيار الهجرة (migration current) وعند الانتقال من التركيز العالي إلى الواطيء فيقل تيار التنافذ (diffusion current)

ملاحظة: تركيز KCl 0.1 اكبر 100 مرة من $PbCl_2$ 0.001 لكي يجهزنا بكمية كبيرة من ايونات K وتسمى الالكتروليت الداعم (supporting electrolyte) والمجهز للشحنة ويجب ان يكون:

1. ان يكون تركيزة عالي لكي يجهزنا بالايونات التي تولد شحنة على القطب لتعادل المجال الكهربائي.
2. ايوناتة لا تختزل الا بجهود عالية اعلى من المادة التي يراد قياسها.

ان سرعة حركة اي نوع من الايونات أو الجزيئات بسبب التنافذ يتناسب مع تركيز هذه الانواع، فالفرق بين التركيزين في نقطتين مقسوما على المسافة بينهما كالاتي:

$$\frac{dc}{dt} = D\frac{dc}{dx}$$

اذ c هي تركيز الانواع المتنافذة.

D هي ثابت التناسب وتدعى معامل التنافذ (يدعى هذا قانون Fick الاول) وبتطبيق قانون Fick لحل مشاكل التحليل الكهربائي قيد الدراسة فانة يقود للعلاقة الاتية:

$$id = nFA\left(\frac{D}{\pi t}\right)^{\frac{1}{2}} C$$

اذ id هو تيار التنافذ مقاسا (بالميكروامبير μA) المار خلال زمن t ثانية من بداية التجربة، n عدد الاكترونات الداخلة بالتفاعل القطبي وF فاراداي Faraday (96500 كولوم)، A هي مساحة القطب (بالسنتيمترات المربعة) وD هي معامل التنافذ وC هي تركيز الانواع الفعالة من المادة في المحلول (مليمول في اللتر).

قطب الزئبق المتقاطر (DME)

ان اكثر الاقطاب الميكروية الشائعة الاستعمال هو القطب الزئبقي والذي يكون على شكل قطرات متعاقبة تنزل من انبوب شعري ذو فوهة ضيقة جداً وبهذا يكون له عدة فوائد اساسية اهمها:-

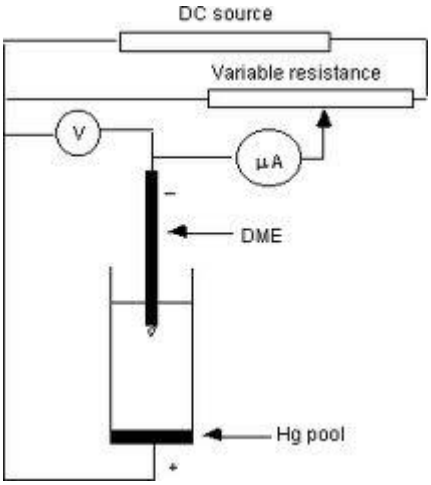
اولا: هي فوق الفولتية العالية للهيدروجين للقطب الزئبقي.

ثانيا: تجدد سطح القطب بصورة دائمية وبذلك لا يمكن ان يقارن هذا القطب مع الاقطاب الصلبة.

ان القانون Fick السابق ينطبق على العلاقة الخطية ولما كانت قطرة الزئبق تشبه الكرة فاشتقاق معادلة DME مناظرة للمعادلة Fick يجب الافتراض بان تقاطر الزئبق ثابت وان شكل قطرة الزئبق كروية اي ان تنفصل من الانبوب الشعري وبان قانون التنافذ الخطي linear ينطبق على السطح الكروي وهذا يعود إلى المعادلة الاتية:

$$id = 708.2.nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}C$$

معادلة الكوفيك Ilkovic.



شكل (4-9) الدائرة الالكترونية لقطب الزئبق المتقطر

708.2 اتى من الشكل الهندسي للكرة

n عدد الالكترونات

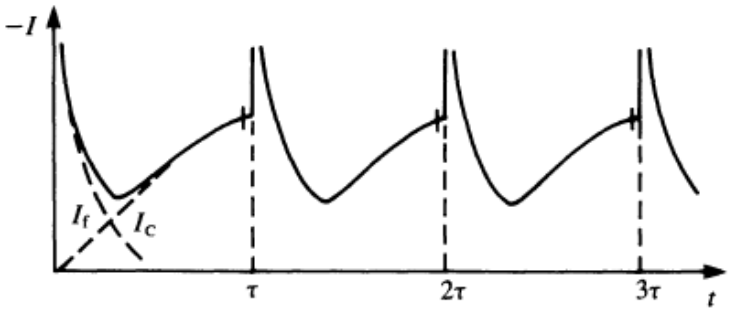
D معامل التنافذ

m وزن الزئبق المتدفق أو سرعة الزئبق المتدفق mg/sec

C تركيز المادة mm/l

- تيار التنافذ يتناسب مع حجم القطرة اذ ان القطرة عند نزولها تكون صغيرة فالتيار يكون صغير ثم تكبر القطرة إلى ان تسقط فيزيد التيار

يكون التغير في التيار في نهاية عمر القطرة أو يكون باخذ معدل التيار بواسطة التكامل بين التيار والتركيز.



شكل (4–10) تيار التنافذ

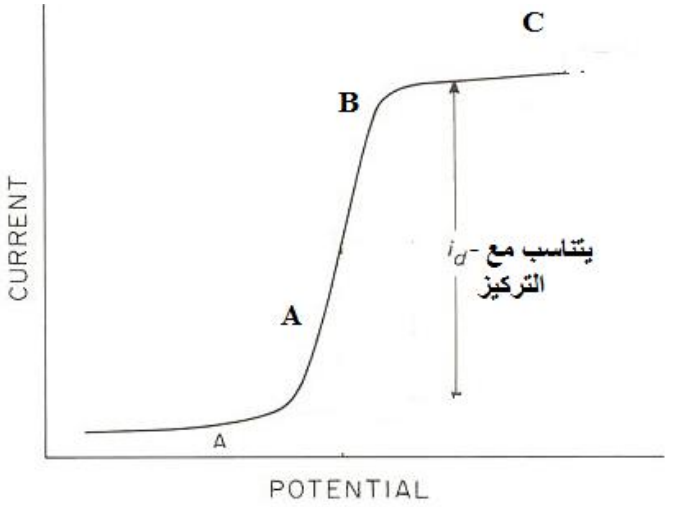
$$id^{-} = \frac{1}{td}\int_{0}^{td} idtd = \frac{6}{7}id$$

ilkovic equation (معادلة الكوفك)

$$i_d = 607\ n\ C\ D^{1/2} m^{2/3}\ t^{1/6}$$

معادلة الكوفيك هذه المعادلة لا تعطي نتائج جيدة بحالتين:

1. اذا كان تركيز supporting اقل من 25 مرة من تركيز المادة المراد قياسها، واذا كان تركيز عالي فيمنع مرور تيار الهجرة.
2. عند نزول قطرات Hg سريعا فسوف نرج المحلول فسوف يحدث تشويش لايونات K^+ مما يؤدي إلى دخول تيار الهجرة مع تيار التنافذ لذلك يفضل ان يكون عمر القطرة من (3–5) ثانية، اما اذا كان هنالك مقدار من تيار الهجرة مع تيار التنافذ لذلك القيمة اكبر من الواقع. تغيير الفولتية التدريجي على الخلية البولاراكرافية.



شكل (4 – 11) منحني تيار – فولتية

عند تغيير الفولتية يمر تيار وعادة تسليط الفولتية يبدأ من الموجب إلى السالب، عندما يراد تسليط فولتية 1v أو 2v يكون تدريجي اي تسليط 0.5v ونقيس التيار ثم نرسم منحني(تيار – فولتية).

- في منطقة A يكون صغير جدا ويسمى التيار الراكد residual current أو التيار المتبقي. سطح الزئبق Hg مشحون والمحلول المائي يحتوي على ايونات فالطبقة المغلقة تعمل كمتسعة كهربائية وقطرة Hg تكون مشحونة فنحتاج إلى تيار.
- وفي منطقة B الجهد بدأ يكبر فيكون كافي لاختزال ايونات مثلا (Pb) في المثال السابق ويقل تركيزها.
- في منطقة C بعد ان يصبح تركيز Pb قليل فان ايونات K تمر عن طريق التنافر فتختزل و تظهر هذه المنطقة تيار التشبع وتسمى هذه المنطقة منطقة الاشباع.

عند الفولتية العالية مثلا 2.7 v– فان الايونات تنتهي اذ لا يوجد ايونات تختزل بهذه الفولتية فيبدأ دور المحلول المائي بالاختزال.

ملاحظة: عملية البولاراكرافية تقيس الايونات الموجبة والسالبة المتعادلة.

<u>شكل الموجية البولاراكرافية</u>

ان الايونات التي تختزل على سطح قطرة Hg مثل Pb فتتحول إلى ملغم.

$$M^{n+} + ne^- \rightarrow M(Hg)$$

الايون الموجب في المحلول M^{n+} ، اذ تطبق معادلة نيرنست على هذا التفاعل.

$$E_{DME} = E^0 - \frac{RT}{nF} ln\left(\frac{[M]_{Hg}}{[M^{n+}]_{aq}}\right)$$
$$\therefore id^- = K^-([M^{+n}]_{aq} - [M^{n+}]_{aq^0}$$

التركيز صفر محلول مائي.

$$id^- = K[M^{n+}]_{aq}$$

من معادلة الكوفك نلاحظ.

$$\frac{id^-}{C} = K = 607\, n\, D^{1/2} M^{2/3} t^{1/6}$$

وتركيز M في الملغم يتناسب مع التيار أو ان:

$$id^- = K^-[M]_{Hg}$$

اذ K^- مماثل K. اذن معامل التنافذ (ملغم) يساوي معامل التنافذ للمحلول المائي:

$$\therefore \frac{K}{K^-} = \sqrt{\frac{D}{D^-}}$$

D^-, D = معامل التنافذ من المحلول والزئبق وتكون متقاربة. ومن ربط هذه المعادلات نستخرج المعادلة الاتي:

$$E_{DME} = E^0 - \frac{RT}{2nF} ln\left(\frac{D}{D^-}\right) - \frac{RT}{nF} ln(\frac{id^-}{id^- - id})$$

اذ ان i = اي نقطة على التيار. وعند النقطة حيث:

$$i^- = \frac{1}{2} id^-$$

تختزل العبارة الاخيرة من المعادلة ويعبر عن الجهد بـ $E_{1/2}$ اي جهد نصف الخلية.

$$E_{1/2} = E^o \frac{RT}{2nF} ln(\frac{D}{D^-})$$

وبذلك تصبح المعادلة:

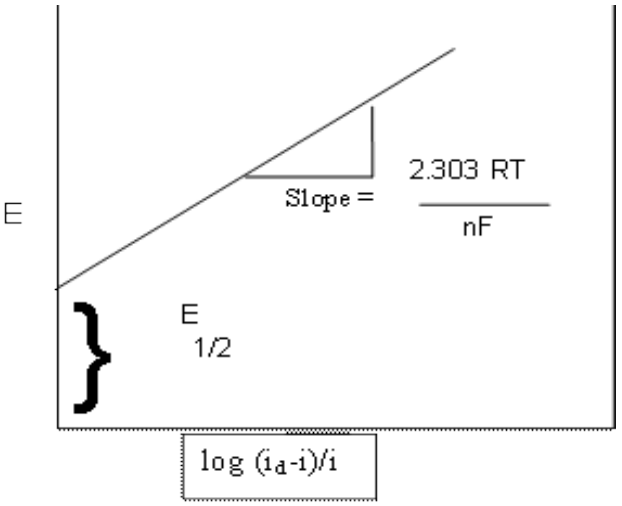
$$E_{DME} = E_{1/2} - \frac{RT}{nF} - \frac{RT}{nF} ln(\frac{id^-}{id^- - id})$$

$E_{1/2} \approx E^{\circ}$

من المعادلة الاخيرة ان جهد نصف الخلية والذي هو عبارة عن كمية سهلة القياس ونقيس ببساطة E^0 وان كل من D^-،D عادة غير مختلفين ولذلك $E_{1/2}$ دائما يساوي E^0.

- المعادلة أعلاه تطبق على الايونات البسيطة وايضا تستطيع بواسطة هذه المعادلات ايجاد عدد الالكترونات المختزلة والمتأكسدة في التفاعل.

اي نطبق معادلة الكوفك. لكن عند اضافة معقدات للايونات البسيطة بحيث يحدث تغير بسيط في معادلة الكوفك التي تستخدمها.



شكل (4-12) تقدير مقدار $E_{1/2}$

A plot for calculation of $E_{1/2}$

Slope = 0. 059\n

$$E_{1/2} = E^0 + \frac{RT}{nF} lnK_c - \int ln \frac{RT}{nF} ln[x]$$

K_c ثابت التفكك

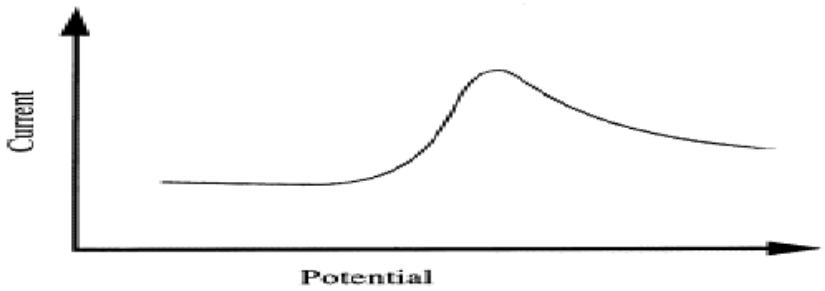
X = تركيز المعقد

$\int$= عدد الجزيئات في X التي تتخذ مع g. atom من الفلز M.

ينحرف $E_{1/2}$ للمعقد نحو سالب اكثر وتستطيع من تطبيق المعادلة وايجاد K_c للمعقد.

- **مشاكل البولاراكرافي**

1. الذروات العظمى maxima وهي واحدة من المشاكل التي تظهر في البولاراكرافي اذ عند ازدياد الجهد المسلط يزداد التيار والذي يعمل على تفريغ الشحنات من الايونات بدلا من امتداده بصورة مستوية.



شكل (4- 13) الذروات العظمى

في الرسم البياني يلاحظ ان التيار تنخفض شدته مكونا قمم حادة أو حدبات صغيرة ثم يستوي وللتخلص من هذه الظاهرة أو القمم يتم اضافة جيلاتين لتقليل التشوه ويقال ان سبب هذه المشكلة هو ان قطرة Hg موزع عليها الشحنة بصورة غير منتظمة وبالاتي توزع ee على سطح القطرة غير منتظم فتتكون حركة زاوية وبالاتي ترج المحلول اي سوف تأثر على منطقة التنافذ وتشوهها وهذه الظاهرة تظهر بجهد معين. الجلاتين من المواد الخافضة للتوتر السطحي ويجب تحضيره يوميا وبتراكيز معينة حوالي 0.2% ومنة بأخذ 0.1 مللتر ويضاف إلى 10 مللتر من المحلول.

وتضاف بعض المنظفات الايونية Tritonx –100 أو بعض الاصباغ مثل المثيل الاحمر اذ تمتص هذه المواد على سطح القطرة وتقلل من الحركة الزاوية وهذه المواد تسمى خافض الذروات Maxima suffressor.

2. تداخل الاوكسجين

الاوكسجين المذاب قابل للاختزال على القطب Hg ويكون اختزاله بمرحلتين كما مبين في المعادلات الاتية:

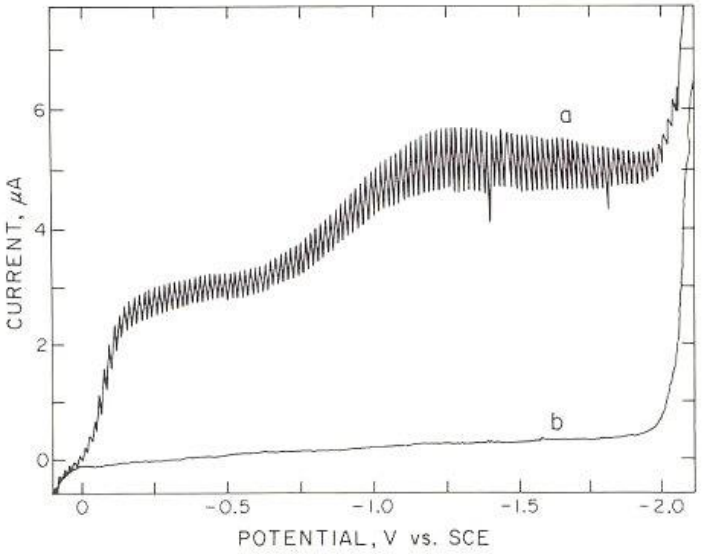
1. الخطوة الاولى:

$O_2 + 2H^+ + 2e \rightarrow H_2O_2$ في جهد 0.05

2. الخطوة الثانية:

$H_2O_2 + 2H^+ + 2e \rightarrow 2H_2O$ في جهد -0.9

فهذه الموجتين تتداخل مع موجات الايونات لذا تعمل على تشوية الموجة فنضيف مواد تزيل هذه الموجات مثل Na_2SO_3 أو امرار غاز خامل مثل N_2 أو اي غاز خامل.



Polarograms of 0.1 M KCl. (a) Saturated with air, (b) after deoxygenation by nitrogen bubbling
شكل (14-4) بولاراكرام لـ 0.1 M KCl

- **نواتج البولاراكرافي**

1. جهد نصف الموجة half wave potential للتقدير النوعي.
2. تيار التنافذ diffusion current للتقدير الكمي.

- **التقدير النوعي:** (جهد نصف الموجة) وهي صفة مميزة للمادة التي تعاني تأكسد واختزال على القطب Hg وتعتمد على طبقة المحلول الذي يذاب فيه الالكتروليت اذ تختلف $E_{1/2}$ باختلاف supporting electrolyte اذ يوجد جدول خاص لبعض المواد كما في الجدول (4−1).

جدول (4−1) $E_{1/2}$ و supporting electrolyte لعدد من ايونات الموجبة

METAL	SUPPORTING ELECTROLYTE	$E_{1/2}$ (V)
As(III)	1 *M* HCl	−0.43/−0.67
Bi(III)	1 *M* HCl	−0.09
Cd(II)	0.2 *M* NH_4 Citrate, pH 3	−0.62
Co(II)	1 *M* NH_3 - 1 *M* NH_4Cl	−1.22
Cr(III)	0.2 *M* KSCN, pH 3 with HOAc	−0.85
Cr(VI)	1 *M* NaOH	−0.85
Cu(II)	0.2 *M* NH_4 Citrate, pH 3	−0.07
Fe(III)	0.2 *M* TEA - 0.2 *M* NaOH	−1.0
Mn(II)	1 *M* NH_3 - 1 *M* NH_4Cl	−1.66
Ni(II)	1 *M* NH_3 - 1 *M* NH_4Cl	−1.0
Pb(II)	0.2 *M* NH_4 Citrate, pH 3	−0.45
Sb(III)	6 *M* HCl	−0.18
Sn(II)	0.2 *M* HOAc - 0.2 *M* NaOAc	−0.20/−0.53
Sn(IV)	1 *M* HCl - 4 *M* NH_4Cl	−0.25/−0.52
Tl(I)	1 *M* HNO_3	−0.48
U(VI)	0.1 *M* HCl	−0.18/−0.94
Zn(II)	0.2 *M* NH_4 Citrate, pH 3	−1.04

Half-wave potentials of some metal ions.

جدول (2−4) $E_{1/2}$ و supporting electrolyte لعدد من الايونات السالبة

ANION	SUPPORTING ELECTROLYTE	$E_{1/2}$ (V)
Br^-	0.1 *M* KNO_3	(0.12)
CN^-	0.1 *M* NaOH	(−0.36)
Cl^-	0.1 *M* KNO_3	(0.25)
I^-	0.1 *M* KNO_3	(−0.03)
IO_3^-	0.1 *M* Phosphate Buffer, pH 6.4	−0.79
NH_2OH	1 *M* NaOH	(−0.43)
NO_2^-	2 *M* Citrate, pH 2.5	−1.06
$S^=$	0.1 *M* NaOH	(−0.76)
SCN^-	0.1 *M* KNO_3	(0.18)
$S_2O_3^=$	0.2 *M* NaOAc Buffer, pH 5	(−.40)
$SO_3^=$	0.2 *M* NaOAc Buffer, pH 5	(−0.65)

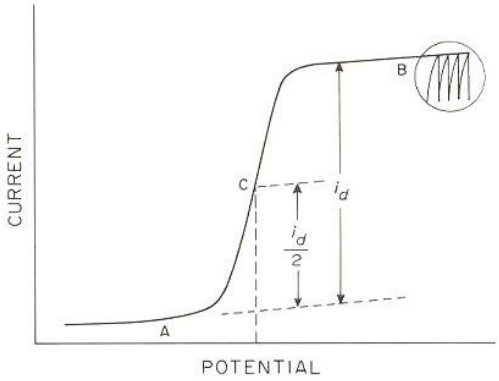
( ) Values in parentheses indicate that the electrode reaction is an oxidation.

Half-wave potentials of some anions.

- **التقدير الكمي:** ويعتمد على تيار الانتشار وتوجد عدة طرائق للتقدير الكمي:−

1. الطريقة المطلقة Absolute method تطبق معادلة الكوفك

$$i_d = 607\ n\ C\ D^{1/2} m^{2/3}\ t^{1/6}$$



شكل (4–15) منحني التقدير الكمي في الطريقة المطلقة

اذ m, t يمكن تقديرها للانابيب الشعرية اذ t عمر القطرة وان t تعتمد على عدة اشياء. A فتحة الانبوب الشعري والتحكم بالقطرة، B. ارتفاع وانخفاض عمود الزئبق، وM وهو كمية ما ينزل من الزئبق Hg في الثانية الواحدة mg/sec.

وزن Hg النازل	T(sec)
100 mg	50
x	1

وان M, t يعتمدان على الانبوب الشعري.

D ثابت التنافذ ويقدر عندما كل شيء في المعادلة معلوم اي باستخدام تركيز معلوم فنحصل على D.

اذ يجري تغيير بسيط في معادلة الكوفك:

$$607nD^{1/2} = I^{-} = \frac{id}{C\ M^{2/3}t^{1/6}}$$

اذ I^{-} ثابت التيار التنافذي diffusion current constant ويقدر بموجب جداول.

كما في الجدول (4–3)

جدول (4–3) ثابت التيار التنافذي

t=3. 392 sec; m=2. 305mg/sec; C=3. 018 millimole/liter

Abscissa	Deflection	Time	Limiting current i_I	Residual current i_r	Diffusion current i_d
Turn	cm	sec	Ug	ug	ug
0	0.054	0	0. 00	0. 00	0. 00
0. 128	0. 031	0. 005	0. 34	0. 29	0. 05
0. 237	0. 045	0. 009	0. 49	0. 27	0. 22

0. 363	0. 061	0. 013	0. 67	0. 25	0. 42
0. 506	0. 104	0. 018	1. 14	0. 24	0. 90
0. 673	0. 179	0. 025	1. 96	0. 23	1. 73
1. 347	0. 399	0. 019	4. 40	0. 20	4. 20
2. 061	0. 625	0. 076	6. 93	0. 19	6. 74
2. 828	0. 794	0. 104	8. 84	0. 17	8. 67
4. 176	0. 959	0. 153	11. 07	0. 16	10. 91
5. 576	1. 124	0. 204	12. 63	0. 15	12. 48
8. 076	1. 291	0. 296	14. 36	0. 14	14. 42
12. 576	1. 491	0. 461	16. 94	0. 13	16. 81
17. 306	1. 634	0. 635	18. 61	0. 13	18. 47
23. 544	1. 766	0. 863	20. 17	0. 12	20. 05
28. 312	1. 845	1. 038	21. 11	0. 12	20. 99
39. 576	2. 005	1. 451	23. 03	0. 11	22. 92
54. 669	2. 164	2. 005	24. 94	0. 11	24. 81
66. 704	2. 253	2. 446	26. 05	0. 11	25. 94
80. 086	2. 325	2. 937	26. 92	0. 11	26. 81
92. 487	2. 371	3. 392	27. 49	0. 11	27. 38

Variation of diffusion current with time for drop one

مثال

اذا كان ثابت التيار التنافذي لايون Pb هو 3.8 وكان التيار التنافذي لمحلول Pb المجهول هو 6.14 MA في تجربة منفصلة جمعت 20 قطرة من Hg خلال فترة 100 ثانية ووجد بانها تزن 120 ملي غرام، احسب تركيز المحلول من Pb.

الحل:

$120/100 = 1.2\ mg/sec = M \rightarrow (M)^{2/3}\ t^{1/6} =$

$100/20 = 5\ sec\ drop\ time = t \rightarrow (1.2)^{2/3}\ (5)^{1/6} = 1.48$

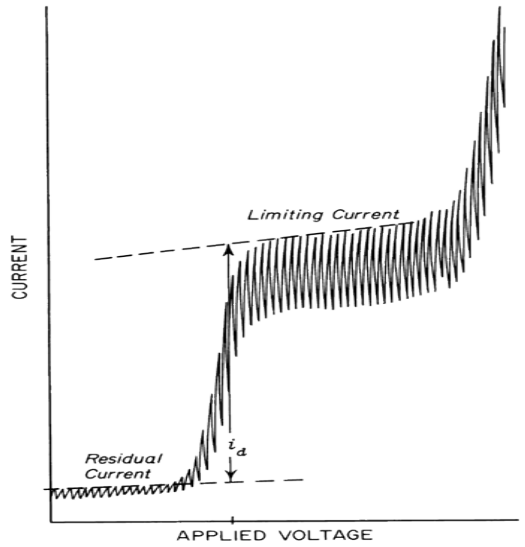
$$C = \frac{id}{I - M^{\frac{2}{3}} t^{\frac{1}{6}}} = \frac{6.14}{3.8 \times 1.48} = 1.09 \frac{mM}{l}$$

$= 1.09 \times 10^{-3}\ M/l$

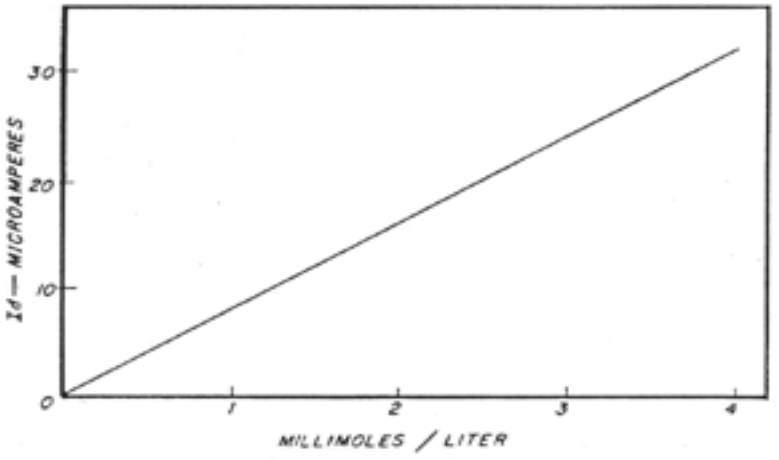
تطبق هذه المعادلة لكي لا تستخدم D.

2. طريقة المحاليل القياسية Standard Calibration Method

في هذه الطريقة نقيس البولاروكرام لعدة محاليل ثم نحسب الـ id لكل محلول ومن ثم نرسم المنحني القياسي بين الـ id ضد التركيز conc.



شكل (4–16) بولاروكرام لمحلول قياسي



شكل (4–17) منحني المعايرة في طريقة المحاليل القياسية

ملاحظة: من عيوب هذه الطريقة هو قياس البولاروكراف لعدة محاليل.

3. طريقة الاضافات القياسية standard additions method

في هذه الطريقة ناخذ حجم معلوم من التركيز المجهول وناخذ البولاروكرام له ثم نضيف حجم معلوم من تركيز معلوم لنفس المادة ويؤخذ البولاروكرام مرة ثانية.

$$\frac{C_x}{C_{std}} = \frac{id_{unk}}{id_{std}}$$

ومن هذه المعادلة يتم ايجاد تركيز المواد عند جمع محلولين لنفس المادة بتراكيز معينة

$i_d = 607\ n\ C\ D^{1/2} m^{2/3}\ t^{1/6}$

$id_1 = KC_1$

$id_2 = K\ v1c1 + v_2c_2$

$$C_1 = \frac{id_1 v_2 c_2}{id_2(v_1 + v_2) - id_1 v_1}$$

مثال: محلول لايونات الرصاص Pb ذات تركيز مجهول اعطى تيارا تنافذيا مقداره 10uA و0.5ml من هذا المحلول اضيف $0.001M$ from 10ml من محلول Pb واخذ بولاروكرام مرة ثانية فكان مقدار id=15uA احسب تركيز Pb في المحلول المجهول؟

$$C_1 = \frac{id_1 V_2 C_2}{id_2(V_1 + V_2) - id_1 V_1}$$

$$C_1 = \frac{10 \times 10 \times 0.001}{15(5 + 10) - (10 \times 5)}$$

$C_1 = 0.00006M$

ملاحظة: عند تسليط الجهد مرة واحدة وليس بالتدريج فان قلم البولاروكراف يأخذ الحالة النهائية.

جهاز الفولتامتري مع جهاز الاوتوماتيكي للعينات مع القطب الثلاثي

Voltammetric analyzer complete with autosampler

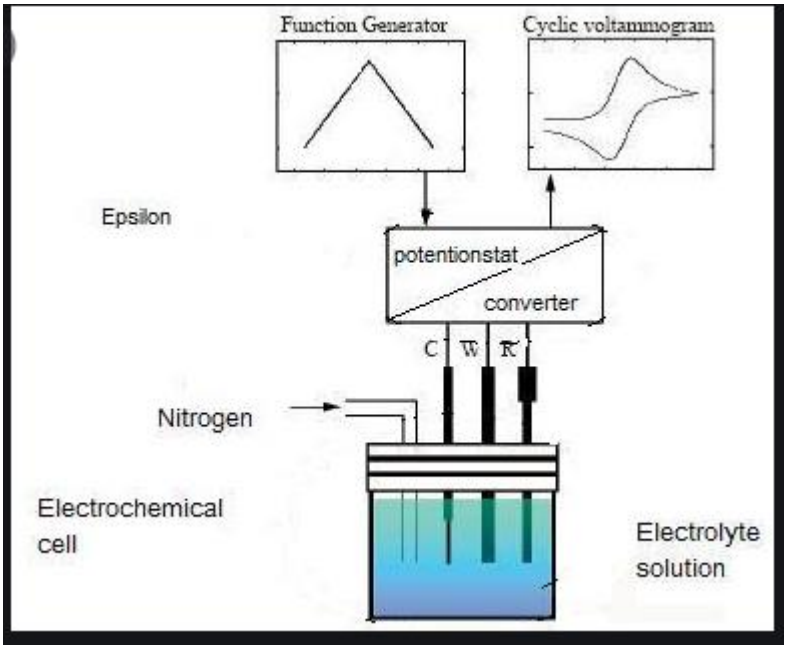
يستخدم هذا الجهاز في المختبرات التحليليه للبحوث المتقدمة وهو جهاز ذو كفاءة عالية ومكوناته بسيطة ويمكن ان يقيس النماذج بشكل اوتوماتيكي وبدقة وحساسية عالية ويستخدم فيه قطب مندمج واحد مكون من قطب قياسي(المرجعي) مندمج مع قطب العمل والشكلين (4-18)،(4-19) يبينان مكونات الجهاز.

مواصفات الجهاز:

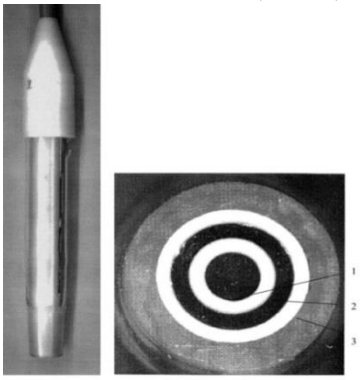
1. عالي الحساسية للمعادن الثقيلة واليود والسيلينيوم.
2. عالي الحساسية تصل حساسيتة إلى 0. 01 مايكروغرام/ لتر.
3. عالي الاداء مع اتمام عملية التحليل.
4. لا يوجد له اي مضار عند الاستعمال (خالي من الزئبق السائل).
5. منخفض التكلفة عند الاستخدام.

استعمال الجهاز:

1. لتحليل العناصر الثقيلة
2. قياس اليود والسلينيوم
3. قياس الميثانول واثلين الكلايكول



شكل (4-18) مخطط لجهاز الفولتامتري



شكل (4-19)

(a) صورة عرضية للقطب المستخدم (b) صورة للتوضيح الاقطاب .

التسحيحات الامبيرومترية Amperometric titration

بما ان التيار التنافذي للمادة القابلة للاختزال تتناسب مع تركيزها.

$i_d = 607\ n\ C\ D^{1/2} m^{2/3}\ t^{1/6}\ C$

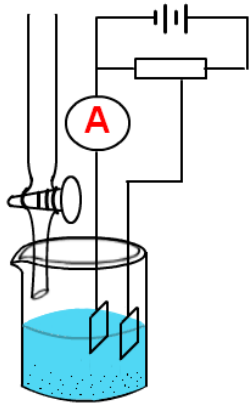
id= K= C

اذ:

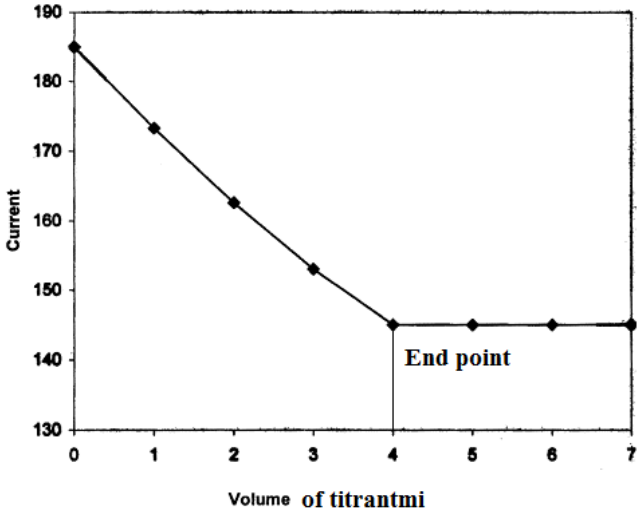
C = mM/l

من الضروري للمادة المسحه أو المادة المسحه أو كليهما ان تعطي تيار تنافذي كاثودي أو انودي حتى تصبح المعادلة قابلة للتطبيق.

- في التسحيح الامبيرمتري يتم تسليط الفولتية مرة واحدة عكس البولاروكرافي.
- منحني التسحيح يتكون من مستقيمين نقطة التقاطع هي نقطة التكافؤ.



شكل (4-20) التسحيح الامبيرومتري

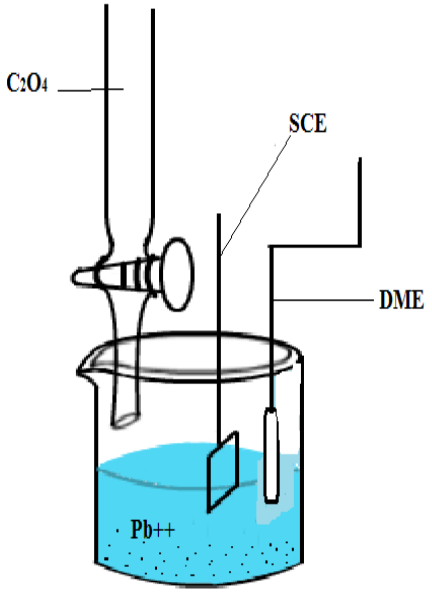


شكل (4-21) منحني التسحيح الامبيرمتري

وهناك ثلاثة انواع من منحنيات التسحيح.

1. منحني التسحيح الاول:

ناتج من تسحيح ايون قابل للاختزال بكاشف لا ينتج موجة بولاروكرافية.



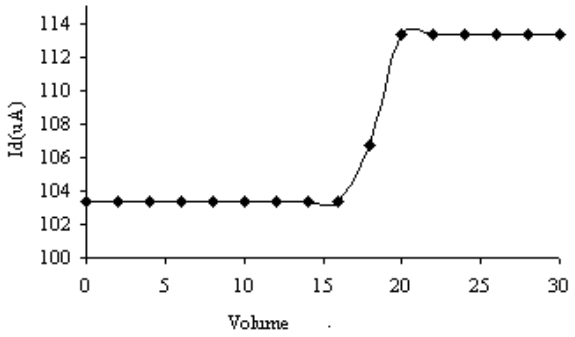
شكل (4–22) خلية تحتوي على ايونات الرصاص المختزلة

نلاحظ ان Pb تختزل فيقل تركيزها اما الاوكزالات لا تتأثر وعند انتهاء تركيز Pb نلاحظ ان التيار التنافذي يبقى ثابت.

$$Pb^{++} + C_2O_4^{-} \rightarrow PbC_2O_4$$

2. منحني التسحيح الثاني

في حالة المادة المسححه تتأثر بالجهد المسلط لكن المادة المسححه لا تتأثر نلاحظ ان التيار التنافذي يقل وعند اضافة 1 ml من Pb فان التيار التنافذي يبقى ثابت لان Pb عند اضافته يتحول إلى اوكزالات الرصاص إلى ان ينتهي الاوكزالات فيبدأ التيار التنافذي يزداد بسبب بقاء Pb فقط.

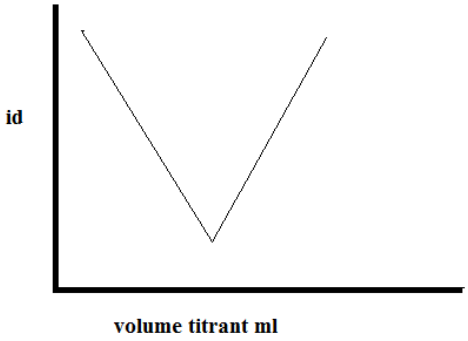


شكل (4-23) منحني التسحيح الثاني

مثال: عند تسليط 0.0 v يكون غير كافي لاختزال Pb فان التيار التنافذي يكون غير موجود لكن للداي كرومات يمكن ان يختزل في 0.0 فولت.

3. منحني التسحيح الثالث

عند تسليط جهد 1.0 v− فان Cr_2O_7، Pb^{++} تختزل بهذا الجهد فعندما يكون Pb ذو تركيز عالي فان التيار التنافذي يكون عالي ثم يبدأ يقل مع تقليل تركيز Pb بسبب تحولة إلى الداي كرومات إلى ان ينتهي Pb ثم يبدأ id يزداد بزيادة تركيز Cr_2O_7.



شكل (4-24) منحني التسحيح الثالث

ملاحظة: لكي نحصل على خط مستقيم في الرسم وليس منحني يتبع المعادلة الاتية:

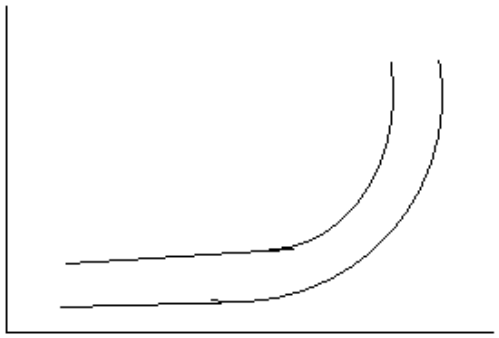
$$V = \frac{V + v}{V}$$

اي رقم نحصل عليه من التسحيح يضرب في هذا المقدار لكي يظهر مستقيم في الرسم، اذ V حجم المحلول الاصلي المسحح، وv حجم الكاشف المسحح النازل من السحاحة.

ولكي نتجاوز الزيادة في الحجم يجب ان يكون حجم الكاشف المضاف ضئيلاً مقارنة مع الحجم الكلي وتركيز المسحح (الكاشف) يكون اكبر من المسحح بمقدار 10 مرات حتى نتجاوز الزيادة في حجم المحلول التي تعمل على تقليل التركيز.

في تفاعلات الترسيب يجب ان يكون الراسب قليل الذوبانية، اذ كانت قابلية ذوبان الراسب قليلاً كلما القراءات صحيحة. ونستطيع باضافة محلول 50% كحول اي نقلل من ذوبانية الراسب.

ان ذوبانية الراسب يسبب تكون المنحني المتقوس للخارج بسبب الزيادة في الحجم والتقوس الداخلي فيعتمد على ذوبانية الراسب.



شكل (4-25) ذوبانية الراسب يسبب تكون المنحني المتقوس للخارج

ملاحظة: ان التسحيح الامبيري لا ينطبق فقط على تفاعلات الترسيب ولكن يمكن تطبيقه على كثير من تفاعلات الاكسدة والاختزال وتكوين معقدات.

مثال: محلول من كلوريد الكادميوم تركيزة 5×10^{-3} F في KCl 0.1F اعطى تيار تنافذي عند 0.8 v – ضد SCE مقداره 50.0 uA كانت سرعة تساقط قطرات الزئبق 18.0 قطرة في الدقيقة الواحدة جمعت عشر قطرات ووجد بانها تزن 3.82×10^{-2} غرام.

a-احسب معامل التنافذ D

b- اذا بدل الانبوب الشعري بآخر الذي فيه عمر نزول القطرة 3 sec وان عشر قطرات تزن 4.2×10^{-2} غرام من القيمة الجديدة للتيار التنافذي.

ملاحظة: 0.8 v ضمن حل السؤال وكذلك تركيز KCl.

الحل/

$i_d = 607\ n\ C\ D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C$

t= 18/16=3. 3 sec

$$\frac{3.82 \times 10^{-2}}{10} = 3.82 \times 10^{-3} = m = mg/sec$$

ثانية	قطرة واحدة
3 .3	1
1	x

$$\frac{1 \times 1}{3.3} = 0.3 \gg 3.82 \times 10^{-3} \times 0.3 = 1.15 \times 10^{-2}$$

زمن نزول القطرة الواحدة.

$$\therefore D = \frac{2.73 \times 10^{-6}(50)^2}{(4)(25)(1.15)^{\frac{4}{3}}(3.32)^{1/3}} = 3.80 \times 10^{-5}\, cm^2/sec$$

Id=(607)(2)(5)(0. 00616)(1. 25)(1. 20)=55. 4 uA

اسئلة الفصل الرابع

1- في البولاروغرافي يهتم بارتفاع عمود الزئبق. علل ذلك؟

2- اكتب معادلة الكوفك (ILkovic) في البولاروغرافي وبين وحداتها وتحت اي الظروف تفشل في التطبيق الدقيق.

3- يعتمد التقدير الكمي البولاروعرافي على تيار الانتشار وتوجد عدة طرائق لذلك؟ عددها وتكلم عن واحدة؟

4- يمرر غاز النتروجين أو تضاف كبريتيت الصوديوم إلى عينات التحليل البولاروغرافي

5- وضح فائدة جهد نصف الموجة $E_{1/2}$ مستعيناً بالرسم.

6- اشرح مع الرسم والمعادلات تداخل الاوكسجين في التحليل البولاراغرافي.

7- في البولاروكرافي:

8- a– لماذا يستخدم قطيرات صغيرة من الزئبق المتقاطر باستمرار كقطب كاثود.

b– لماذا يستخدم الكتروليت داعم الشحنة وماهي فؤائدة ومواصفاتة.

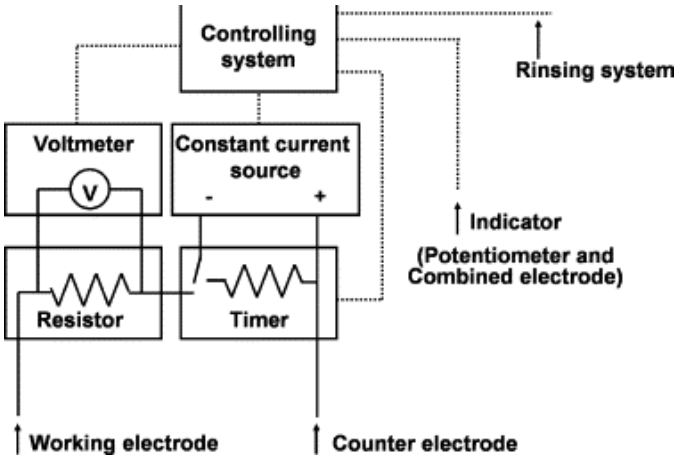
9- ما المقصود بجهد نصف الموجة $E_{1/2}$ وما فائدتها وضح اجابتك بالرسم.

10- يعطي محلول كبريتات الستربتومايسين (streptomycin sulphate) تيار انتشار مقداره 24.3 مايكروامبير عندما يعطي محلولا قياسيا يحتوي 600 مايكروغرام/ مل تيار انتشار مقداره 40.3 مايكروامبير. ما تركيز المحلول المجهول.

الفصل الخامس
الكولومتري و الترسيب الكهربائي

الكولومتري Coloumetry

نقيس بالكولومتري مقدار الكولومات اي معرفة تركيز المادة من خلال قياس الكولومات. لا نستخدم مواد مسححه بل نستخدم جهاز لقياس الكولومات وهو تحلل كهربائي يتم عند تيار ثابت او بوساطة احد القطبين عند جهد مثبت وتقاس عدد الكولومات.



شكل (5-1) النظام الاوتوماتيكي للكولومتري

1coloum =1 amp×1 sec

$$Q = it \int_0^t idt$$

اي ان الكولوم = التيار × الزمن

وحسب قوانين فراداي للتحليل الكهربائي

(كمية معلومة من الكهربائية تمر خلال الكتروليت سوف تنتج كمية مناسبة من التغيير الكهربائي على الاقطاب) اي يحدث ترسيب للمادة عند الاقطاب. والتعبير عن هذه العلاقة:-

$$W = Q\frac{M}{nf}$$

اذ ان

F: فراداي

n: عدد e (عدد المكافئات في الوزن الجزيئي)

Q: عدد الكولومات

W: وزن المادة التي وزنها الجزيئي M

1F: 96500 كولوم لكل مكافيء

ملاحظة: ينطبق هذا القانون للتقدير الكمي لاي مادة يجعلها تعاني تفاعلا كهروكيميائيا بكفاءة تيار 100% (خالية من التفاعلات الجانبية). وتدعى هذه الطريقة بالكولومتري.

- هذه الطريقة صالحة لتقدير الكميات الصغيرة فقط وليس الكميات الكبيرة لان كمية التيار الكهربائي الذي نستطيع قياسه بدقة هو 0.1mA وادق زمن يمكن قياسه هو 0.1 sec.

$Q = it$

$Q = 0.1mA \times 0.1\ sec$

$Q = 0.1mA \times 0.1 = 10^{-4}\ Amper \times sec^{-1}$

اذا اعتبرنا ان كل 96500 تحرر 1 eqm.

$10^5 = 100000 \approx 96500$

$0.1\ mA \times 0.1\ sec = 10^{-5}\ A\ sec^{-1}$

يمثل مقدار الخطأ.

$$\text{القياس حساسية} = \frac{10^{-5}}{10^5}\ 10^{-10}$$

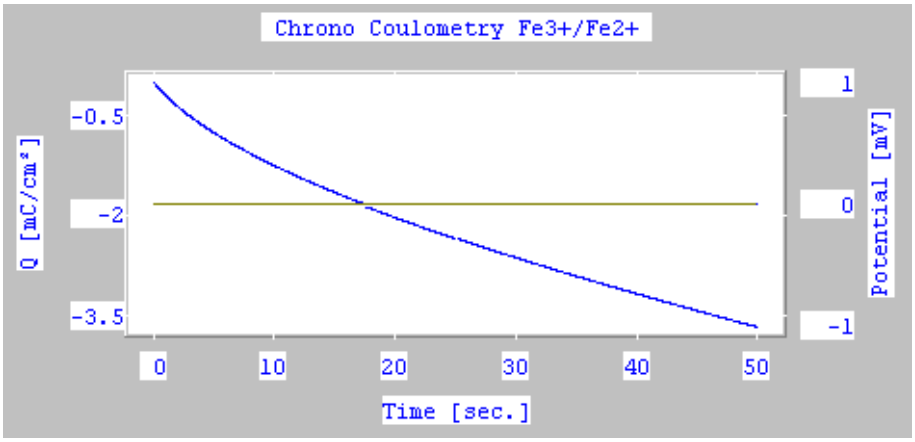
- عند تراكيز قليلة اي ان كمية الكهربائية تكون قليلة. اما عند تراكيز عالية فتمر كمية من الكهربائية كبيرة في الجهاز فتعمل على تسخين الجهاز، اي ان التيار المار لا يصرف 100% على العملية الكيميائية في ترسيب المادة أو تحريرها.
- هناك طريقتان عمل ممكنتان:

الاولى: طريقة عمل على التيار الثابت: اي تكون كمية المادة المترسبة تتناسب مع الزمن المنقضي.

الثانية: طريقة عمل للجهد الثابت: اي ان التيار يتناقص من قيمة عالية إلى الصفر.

في كلا الطريقتين فان الكمية المقاسة هي تكامل:

$$Q = \int_0^t idt$$



شكل (5–2) منحني التسحيح بتناقص التيار مع ثبات الفولتية

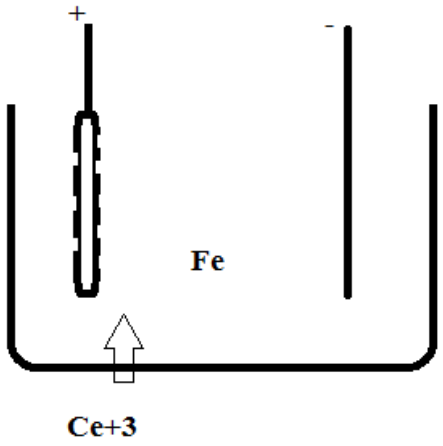
في الحقيقة وفي اغلب الاحيان فان المادة المراد تقديرها سوف تشترك كليا أو جزئيا في تفاعل ثانوي لتفاعل القطب.

كمثال في تأكسد الحديدوز على الانود البلاتين. كل التيار المنتقل على هذا القطب ينتج من تفاعل.

$$Fe^{++} \rightarrow Fe^{+++} + e$$

المنطقة القريبة من القطب (+) يكون التركيز فيها اقل من جملة المحلول اي يسمى هذا الاستقطاب التركيزي concentration polarization وقد يسبب ارتفاع جهد الانود إلى ان يتم بتحلل الماء كعملية منافسة.

$$2H_2O \rightarrow 4H^+ + O_2 + 4e$$



شكل (5–3) خلية التحليل الكولومترية

فالتيار اللازم لاكمال الاكسدة لايون الحديدوز سوف يتجاوز قيمته النظرية ولتجاوز الخطأ الناتج فان وفرا من ايون السيروز Ce^{+3} يمكن الايقاف عند بداية التحليل الكهربائي. ان هذا الايون سوف يتأكسد تحت جهد انودي اقل من ذلك الماء.

$$Ce^{+3} \rightarrow Ce^{+4} + e$$

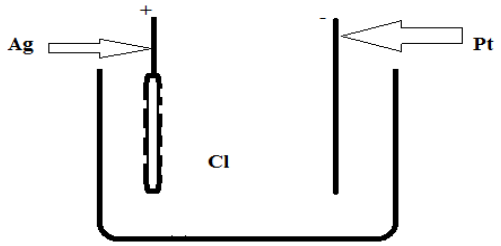
وان ايون السيرك Ce^{+4} الناتج سوف يتنافذ بسرعة من سطح القطب، اذ يستطيع اكسدة كمية مكافئة من ايون الحديدوز.

$$Ce^{+4} + Fe^{+2} \rightarrow Ce^{+3} + Fe^{+3}$$

مثال:

للتقدير الكمي لايون الكلوريد لعملية غير مباشرة: حيث يحصل تفاعل غير مباشر حيث يكون التسحيح من داخل المحلول من خلال اكسدة قطب Ag وهذه الايونات تنفذ إلى المحلول و تترسب ايون الكلوريد.

$$Ag \rightarrow Ag^{+} + e$$

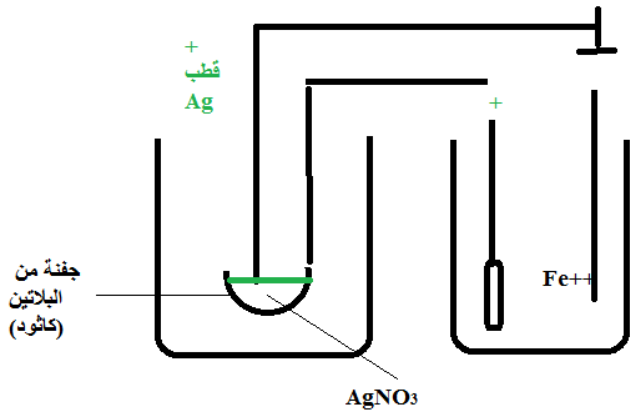


شكل (5-4) خلية التحليل الكولومترية للتقدير الكمي لايون الكلوريد

في كثير من الحالات قياس كمية الكهربائية في الكولومتري الكيميائي تكون صعبة فلذلك تربط خلية التيار الكهربائي مع خلية اخرى بحيث التفاعل يكون واضح والنتائج تكون واضحة. واحدى هذه الكولومترات الدقيقة هي الكولومترات الفضية silver Coloumetry والذي يتكون من انود من الفضة النقية معلق داخل جفنة من البلاتين التي تعمل ككاثود. والجفنة هذه مملوءة بمحلول نترات الفضة والانود الفضي محاط بوعاء مسامي لكي يمسك اي جزيئات دقيقة من الفضة قد يمكن ان تسقط وهذه الجفنة تغسل بعناية وتجفف ثم توزن قبل وبعد اجراء التجربة. ووزن الفلز المترسب في خلية التحليل يمكن حسابه من وزن الفضة المترسبة على الكولوميتر.

القطب يتأكسد $Ag \rightarrow Ag^{+} + e$

$Ag^{+} + e \rightarrow Ag \leftrightarrow$ equivalent of iron



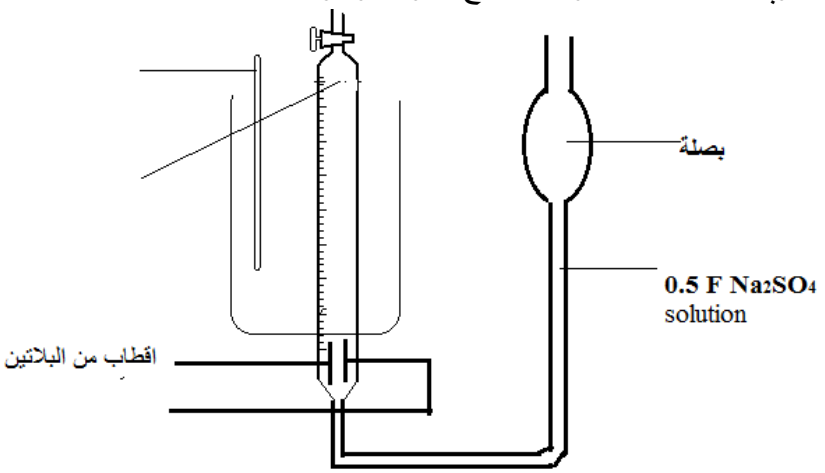
شكل (5–5) الكولومترات الفضية silver Coloumetry

<u>الكولومتري الغازي أو المائي (من حرارة وضغط معلوم)</u>

عند مرور كمية من الكهربائية فيتحلل الماء:

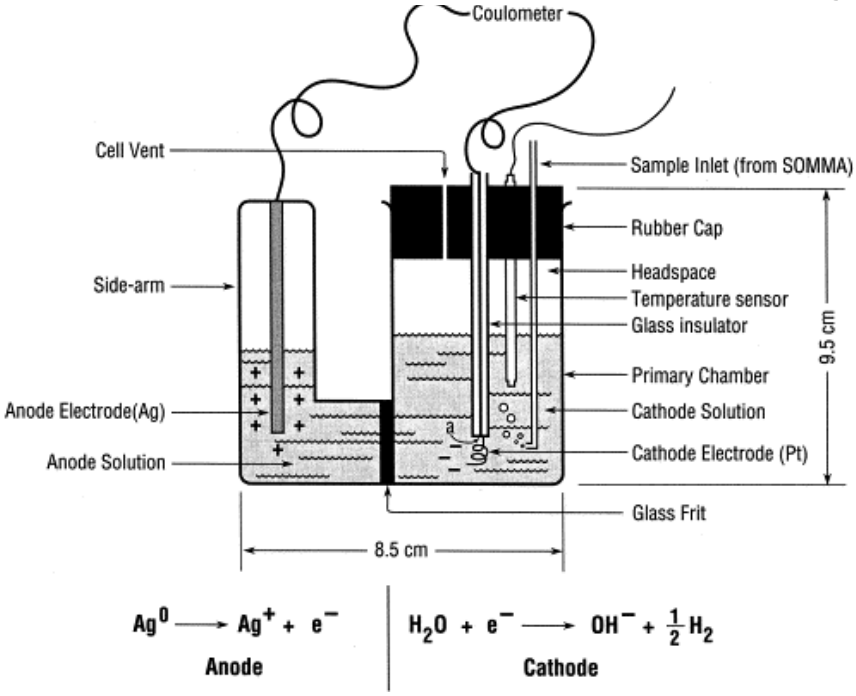
$$2H_2O \rightarrow 2H_2 + O_2$$

كل 1ml من غاز H_2, O_2 (مزيج) في الظروف القياسية تقابل 0.059 meq وكل 16.80 مللتر تقابل 1 meq ومن معرفة كمية الغاز المتجمعة نستطيع معرفة كمية الكهربائية المكافئة المارة فنستطيع معرفة تركيز المادة.



شكل (5 – 6) الكولومتري الغازي المائي

التسحيح الكولومتري



شكل (5-7) مخطط لجهاز التسحيح الكولومتري

جهاز تسحيح كولومتري ذو التيار الثابت ذات نقطة نهاية التفاعل المقدرة بقياس فرق الجهد

$2H_2O + 2e \rightarrow H_2 + 2OH^-$ (تسحيح حامض أو قاعدة)

الكاشف: يكشف نهاية التسحيح في هذا الجهاز عند تسحيح حامض أو قاعدة اذ ان المادة المسححه تحرر في المحلول.

المولد: يولد reagent الايونات التي تحتاجها في التسحيح.

الانود يكون داخل غلاف خافض لانه على الانود والكاثود يحدث عليهما تاكسد واختزال فلكي لا تذهب المواد المختزلة من الكاثود إلى الانود وتختزل بفصل الانود لكي يمنع المادة المتحررة على الانود من الذهاب إلى الكاثود وتتأكسد، ويوجد على الانود شباك ناضح يتكون اما من مبادل انيوني أو مبادل كاتيوني اذ ان المبادل الانيوني يمنع الانيونات من النضوح وبالعكس المبادل الكاتيوني. وهذا الجهاز يولد الحامض والقاعدة التي تحتاجها في عملية التسحيح.

تتولد آنيا داخل المحلول الانود:

$2H_2O + 2e \rightarrow H_2 + 2OH$

$H_2O \rightarrow 1/2\ O_2 + 2H^+ + 2e^-$ كاثود

$2H^+$ يتفاعل مع OH^- الموجودة في المحلول وليس OH^- في الانود ونتيجة لذلك يتغير pH ويتحسس لذلك الكاشف الذي يتكون من Glass electrode, SCE اذ ترتبط بفولتميتر الكتروني يقيس pH وعند الوصول إلى pH المطلوب يعطي الفولتميتر الالكتروني اشارة إلى التوقف، وعند التوقف يقوم الموقف بضرب I في الزمن والحصول على الكولومات.

والكولومتري هو يحدد الايونات المسححه آنيا في المحلول ومن الايونات التي نستطيع جعلها تتحرر في المحلول هي (H^+،Ag^+, OH^-) ومن المؤكسدات ($Fe\ (CN)_6^{-3}$، Fe^{+2}, $Fe(CN)_6^{-4}$, Ti^{+2},) ومن المختزلات (Cr^{+6}, Mn^{+3}, Ag^+, Br_2, Cl_2, I_2 Sn^{+2}،$CrBr_2^-$) ومن المعقدات (CN^-،EDTA) ويستفاد من الكولومتري في قياس الكميات الضئيلة (10^{-16}) وكذلك فان المواد المسححه تحضر آنيا داخل المحلول وبذلك تكون عالية النقاوة على شرط اختيار اقطاب قياسية.

ملاحظة: اصبح من الممكن التعويض عملياً عن طرائق التسحيح الحجمي الكلاسيكي بالطرائق الكولومترية والتي تزيد من الفائدة من عدم ضرورة تحضير وخزن المحاليل الاساسية.

من شرط اختيار اقطاب قياسية مناسبة مثلا S^{-2} فان الانود يكون من الفضة والكاثود داخل غلاف يحوي محلول S^{-2} ونظام الكاشف متكون Ag_2S, SCE.

$S^{-2} + Ag \rightarrow Ag_2S$

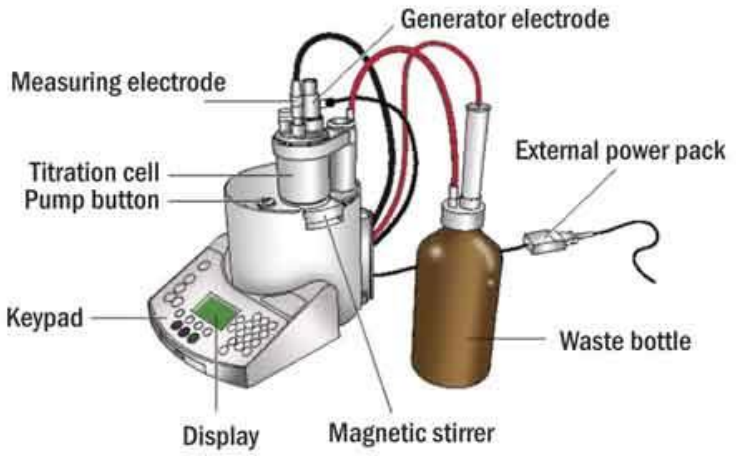
ويقاس Ag_2S من قبل الكاشف. وهناك مواد غير ثابتة لا يمكن تحضيرها في المختبر ويمكن تحضيرها في المحلول ولا نحتاج مادة مسححه.

مثال: عند تحليل I_2 مثلا فيجب ان يكون المحلول KI والكاشف سوف يكون ثايوسلفات والاقطاب للكاشف يجب ان تكون في الظروف الاعتيادية.

النماذج التي تسحح بالكولومتري يجب ان تكون اصغر من 10− 100 مرة من الكميات في التسحيح الحجمي القديم.

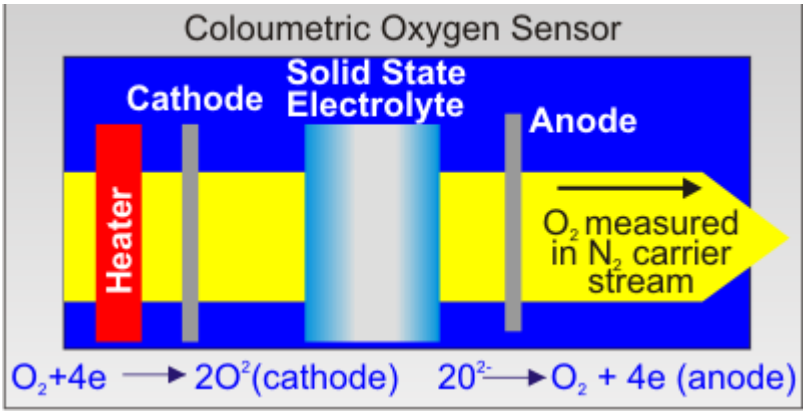
كولومتري meq(0.001 −0.1)تركيز المادة المسححه.

كلاسيكيا meq (1−10) تركيز المادة المسححه.



شكل (5–8) جهاز كولومتري حديث Key Components of a Modern Coulometric KF Titrator

يستخدم هذا الجهاز بتحديد الكميات الضئيلة من الرطوبة في الزيوت أو الوقود بالتسحيح بمحلول كارل فشر KF.



شكل (5–9) طريقة تقدير كمية الاوكسجين في النتروجين بالكولومتري

التحلل الكهربائي Electrolysis

هو نوع مكمل للكولومتري وهو تحلل محلول بمرور تيار من الانود (تأكسد) إلى الكاثود (اختزال) واذا وجدت عدة ايونات في المحلول فان الايونات التي تختزل هي التي لها اكبر قابلية لمسك ee والايونات السالبة التي تتأكسدلها قابلية اقل لمسك ee.

$Ag^{+} + e \rightarrow Ag\ E^{o} = +0.86$
$Cu^{+2} + 2e \rightarrow Ca\ E^{0} = 0.39$
$2H^{+} + 2e \rightarrow H_2\ E^{0} = 0.00$
$Zn^{+2} + 2e \rightarrow Zn\ E^{0} = -0.76$

فلو افترضنا ان الايونات السابقة جميعها موجودة في محلول واحد يحوي اقطاب فالذي يذهب إلى الكاثود ويختزل هو الذي E^0 = + اكبر يترسب أو يتحرر اولا لذلك فان Ag وبعده Cu وبعدة H ثم Zn.

التأكسد على الانود:

$I_2 + 2e \rightarrow 2I^- \; E^0 = 0.54$
$Br_2 + 2e \rightarrow 2Br^- \; E^0 = 1.04$
$2H^+ + 1/2\, O_2 + 2e \rightarrow H_2O \; E^0 = 1.23$
$Cl_2 + 2e \rightarrow 2Cl^- \rightarrow 2Cl^- \; E^0 = + 1.7$

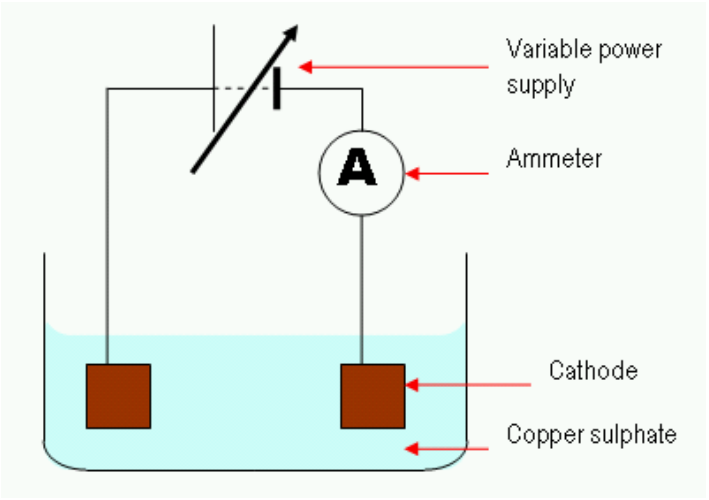
I هو اضعف عامل مختزل واقوى عامل مؤكسد وحسب قانون فاراداي: نفس الكميات من الكهربائية تحرر نفس الكميه من المادة على الاقطاب اي قياس التغير في وزن القطب (الترسيب الكهربائيelectrodepostion) او عدد الكولوميات الازمة لاكمال التفاعل (قياس الكولومية).

وزن مكافيء من المادة 96500 =1F

1F = عدد اوفوكادرو × شحنه (e−)

$E=1.602 \times 10^{-29}$ ، $N = 6.023 \times 10^{23}$

$6.023 \times 10^{23} \times 1.602 \times 10^{-29} = 96500$ coulom



شكل (5–10) مخطط للترسيب الكهربائي

$Cu^{+2} + 2e \rightarrow Cu$ كاثود

$H_2O - e \rightarrow 2H^+ + ½O_2$

لذا فان 1 امبير اذا مر في محلول خلال 96500colom في ثانية يحرر وزن مكافيء من Cu يساوي Cu/2 = 31.79g على الكاثود ومن O يساوي O/2 = 8 g على الانود.

وتحرر المادة السابقة ايضا بمرور 1F في ثانية واحدة أو مرور 96500 كولوم في الثانية فيترسب Cu على الكاثود ويحرر O_2 على الانود.

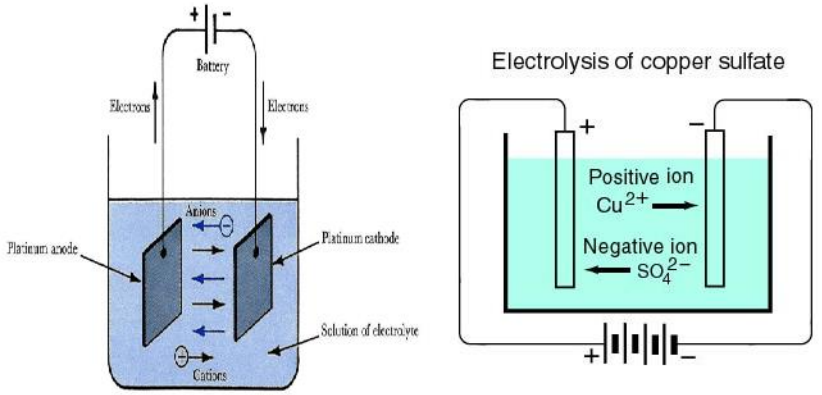
ونرمز للخلية $Pt/\ 1/2\ O_2 + 2H^+ \| Cu^{+2}/\ Cu/\ F$

لكي نحلل ($CuSO_4$) نحتاج لتسليط جهد معين فاقل كمية من الكهربائية تسليطها على قطبين من Pt في محلول معين يلزم لتفكك المحلول يسمى جهد التفكك وعند حسابها تقريبا نلاحظ لا يحدث ترسيب .

$E=E_1- E_2$

$$E = (E^0_{H2O} - \frac{0.059}{2}\log[H^+]^2[O2]^{1/2} - (E^0_{Cu} - \frac{0.095}{2}\log[Cu^{+2}])$$

ترسيب ايونات Cu على الكاثود ويتحرر O_2 على قطب الانود. وفي اللحظات الاولى لمرور التيار يفقد قطبي Pt خواصهما حيث يصبح احدهما قطب Cu والاخر قطب O_2.



شكل (5−11) خلية ترسيب كهربائي باستخدام اقطاب بلاتين

في بداية امرار التيار تتكون خلية الكتروليتية وعند تكون قطب O_2, Cu يتكون فوق الخلية الالكتروليتية خلية كلفانية تعاكس عمل اتجاه الخلية الالكتروليتية (الضغط الالكتروني لمرور التيار). ويحدث في الخلية مرور تيارين باتجاهين متعاكسين ولكي يستمر التحلل يجب تتغلب احدى الخليتين على الاخرى وللتغلب على ذلك يجب ان تكون الفولتية الخارجية اعلى من الفولتية الداخلية المتكونة في المحلول والفولتية الداخلية في المحلول قيست وتساوي 0.9 فولت وتم حسابها حسب القانون السابق. لذا يجب ان تكون الفولتية الخارجية اعلى من 0.9 فولت (بفوق الفولتية). واقل كمية من الكهربائية لمرور تيار في الخلية السابقة يساوي:

$E_A - E_C + O_{VA} + O_{VC} + IR =$ اقل كمية معلومة من فرق الجهد

R = المقاومة

I = التيار

O_{VC} = فوق فولتية الكاثود

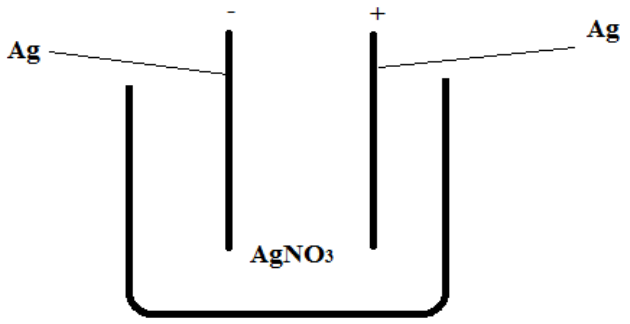
O_{VA} فوق فولتية الانود

E_C = جهد الكاثود

E_A = جهد الانود

جهد التفكك (decomposition potential)

فوق الفولتية: كمية الكهربائية التي تكون اعلى من المحسوبة للتغلب على جهد الخلية الكلفانية التي تولد جهد معاكس. يجب كذلك تسليط فولتية اعلى للتغلب على المقاومة وكذلك على الاستقطاب. وقد تكون الاقطاب في الخلية من اقطاب غير Pt مثلا اذا كان محلول $AgNO_3$ ويحوي قطبين من Ag.



شكل (5-12)

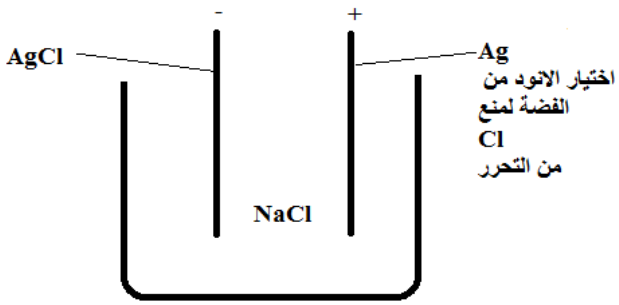
$Ag^+ + e \rightarrow Ag$ كاثود اختزال

$Ag - e \rightarrow Ag^+$ انود تأكسد

أي قطب الانود يذوب ويترسب على الكاثود. اذا كانت الاقطاب من Pt يترسب Ag على الكاثود ويتحرر O_2 على الانود.

$Ag^+ + e \rightarrow Ag$ كاثود

$2H_2O - 4e \rightarrow O_2 + 4H^+$ انود



شكل (5-13)

$AgCl + e \rightarrow Ag + Cl^-$ Cathode

$Cl^- + Ag - e \rightarrow AgCl$ Anode

لذا فان التفاعلات تعتمد على الاقطاب. فاذا كانت محاليل مائية والاقطاب من البلاتين فيترسب الفلز على الكاثود ويتحرر O_2 على الانود وفي حلات معينة خاصة اذا كان للفلز جهد تأكسد ممكن للفلز ان يترسب على الانود بحيث تكون الاقطاب من البلاتين واذا كان يحوي المحلول ايونات Pb,Cu.

$Pb^{++} - e \rightarrow Pb^{+4}$

$Pb^{+4} + 2H_2O \rightarrow PbO_2 + 4H$

لذا فان من الممكن Pb^{+2} ان يترسب على الانود وعلى شكل PbO_2 لذا كأن الايونات التي تتأكسد إلى اكاسيد عالية ممكن ان يترسب على الانود لذا فأن احسن سبيكة من Pb^{+2} و Cu^{+2} ممكن ان يحدث ترسيب على الانود لـ Pb.

<u>الفصل بالتحليل الكهربائي</u>

اذا كان جهد التفكك لايوني نفس المحلول يقعان بعيدان عن بعضهما ممكن لاحد الايونات ان يترسب بصورة كاملة على احد الاقطاب بشرط تسليط جهد يقع بين تفككهما، فتستطيع فصل Zn, عن Cu يترسب احدهما قبل الاخر فنلاحظ ان Cu يترسب اولا وبعد تحرر جميع O_2 يترسب Zn.

E_{Zn}، Zn^{+2}, E_{Cu}، Cu^{+2}

$$E = E^0_{Zn} + \frac{0.059}{2} log[Zn^{+2}]$$

$$E = E^0_{Cu} + \frac{0.059}{2} log[Cu^{+2}]$$

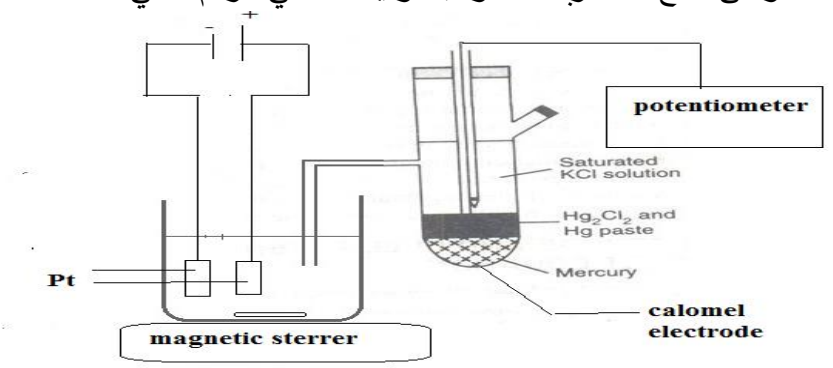
وعند اللحظة التي يترسب فيها Zn بالترسيب يكون E_{Zn} و E_{Cu}.

$$-0.76 + \frac{0.059}{2} log[Zn^{+2}] = 0.34 + \frac{0.059}{2} log[Cu^{+2}]$$

اذن $[Cu^{+2}]=10^{-37.3}$ تركيز Cu عند بدء ترسيب Zn، وهذا يفيد في عملية الطلي الكهربائي controlled cathode potential electrolysis.

التحليل تحت جهد الكاثود المسيطر

في بعض الاحيان يوجد ايونين لهما E^0 متقاربتان ولذلك عند فصلهما بالترسيب سيترسب الايونين معا وحتى نمنع ذلك نربط الكاثود بكالوميل كما في الرسم الاتي:-



شكل (5 – 14) جهاز تعيين جهد قطب مستقل

الجهد المقاس هو:

$$= E_{SCE} - (E_C + W_C)$$

اذ W_C= الجهد المضاف لقطب الدائرة المحتثة جزئيا إلى فوق الفولتية لعملية الترسيب

E_C= القوة الدافعة الكهربائية لقطب الكاثود

E_{SCE}= الجهد القياسي لقطب الكالوميل

ملاحظة: تثبيت الجهد الصحيح على الكاثود لكي يحدث ترسيب بدون تداخل

مثال: اذا سمح لتيار ثابت مقداره 1.500 امبير ان يمرر لمدة ساعة واحدة خلال عدد من الخلايا الالكتروليتية مرتبطة على التسلسل: جميع الاقطاب كانت من الباتين. الخلايا تحتوي على وفر من الالكتروليتات المدرجة ادناه.

1. اذكر المادة المترسبة على الكاثود ولكل منها
2. احسب الكميات بالغرامات (صلبة أو سائلة) أو بالملليترات في الظروف القياسية STP اذا كانت غازية؟

a. $Ca(NO_3)_2$ b. NaOH c. $K_4Fe(CN)_6$
d. HgI e. $Pb(NO)_2$ f. $Ag(NH_3)Cl$

نحول 1hour ← (60×60)sec

عدد الكولومات = 1. 5×(60×60)= 5400 كولوم

القانون ينص 1F = 96500 تحرر واحد اي وزن مكافيء

اذن 96500/5400 = 0.056 equivalent اي ان كمية الكهرباء ترسب 0.056 لكل المادة.

نحسب الوزن المترسب لكل مادة بضرب هذا المقدار (0.056) في الوزن المكافيء للمواد .Cu=31.77 ×0.056=1.78 gram اذا كان لدينا غازات نحسب الحجم المتحرر.

حجم الغاز لتر	نوعه
22.4	H_2
11.2	1/2 H_2

وزن= 1.008× 0.056

اما اذا كان حجم الغاز H_2×0.056=627ml

وتحرر H_2 مساوية لهذه الكمية المتحررة من $K_4Fe(CN)_6$

لحساب وزن Hg المتحرر 100.3×0. 056 = 5.62 غرام

اذ ان 100.3 هي الوزن المكافيء للزئبق

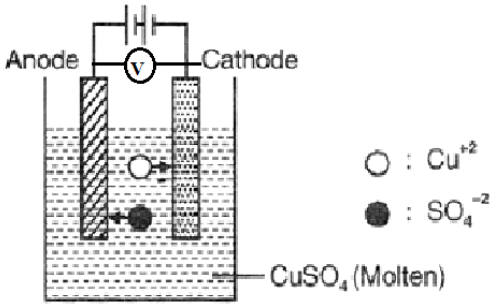
مثال: كم غرام من النحاس Cu يترسب على الكاثود وكم مللتر ml من O_2 في ظروف قياسية يتحرر على الانود بمرور تيار قدرة 40 امبير بمدة 30 دقيقة والذي يمر خلال محلول كبريتات النحاس؟

عدد الكولومات = 4×30×60= 7200 كولوم

عدد المكافئات = 7200 /96500 = 0.075

كل 1F يرسب 2/Cu =31.779 غرام

اذن 31.779 × 0.075 = 2.37 غرام تترسب من النحاس



شكل (5-15)

بالنسبة للاوكسجين كل 1F يحرر 2/O = 8 غرام

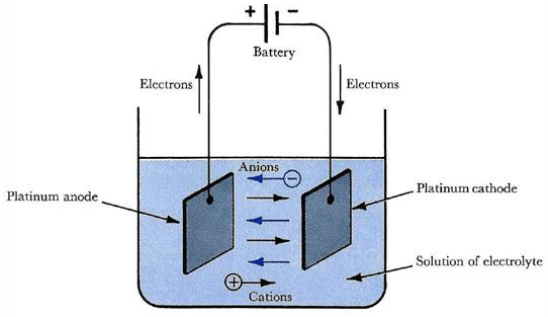
O_2= 22.4l

O= 11.2l

المكافيء 2/O = 8 .5 6 لتر حجم 8 غرام من الاوكسجين

اذن 5600 × 0.075 = 420 مللتر حجم الاوكسجين المتحرر

مثال: اذا احتجنا 18 دقيقة لتيار مقداره 2/1 امبير حتى يترسب نصف غرام من الفضة Ag من محلول $AgNO_3$ فما هي الكفاءة التيارية لهذا الترسيب؟ وهل ان كل التيار استهلك بالترسيب أو قسم منه؟



شكل (5–16)

$$\text{عدد المكافئات} = \frac{18 \times 60 \times 0.5}{96500} = 0.006$$

ويترسب نظريا من الفضة $\frac{18\times60\times1/2}{96500} \times \frac{Ag}{1} = 0.603\ gm$

ويترسب عمليا من الفضة 0. 5

الكفاءة التيارية $\frac{0.500}{0.603} = 82.1\%$

اسئلة الفصل الخامس

1– يفضل استعمال القياسات الكولومترية للتراكيز العالية ولا تفضل للتراكيز الواطئة.

2– تعتبر القياسات الكولومترية حساسة ودقيقة للتراكيز الواطئة ولكن ليس للتراكيز العالية (ناقش ذلك) ثم ارسم جهاز التحليل الكولومتري معلما على اجزاءه.

3– يفضل إجراء التحليل الكهربائي تحت فرق جهد مسيطر للقطب العامل؟

4– إضافة ايون النترات NO_3^- إلى عينات التحليل الكهرووزني؟

5- وضح مع الرسم اجراء الترسيب الكهربائي للفلزات تحت فرق جهد كهربائي مسيطر للقطب العامل.

6- تطلب ترسيب 0.5 غرام من الفضة من محلول نترات الفضة تمرير تيار مقداره 0.75 امبير لمدة 10 دقائق احسب:

a- كفاءة التيار لهذا الترسيب

b- وزن الفضة الذي يترسب عندما تكون الكفاءة التيارية 100%.

c- كمية الكهربائية التي استخدمت للترسيب Q؟

7- اشرح مبادىء التسحيح الامبيرومتري؟

الفصل السادس

قياسات التوصيل الكهربائي Conductometry

التوصيل الالكتروليتي electrolytic conductance

ان التوصيل الكهربائي للمحاليل الالكتروليتية يتم بانتقال الايونات الموجبة والسالبة نحو الاقطاب ويصاحب ذلك انتقال المادة من جزء من الموصل الالكتروليتي الى اخر. ان مرور التيار الكهربائي عبر الموصلات الكهربائية يصاحبه تغيرات كيميائية عند اقطاب الخلية .ان المحاولات الاولى لقياس التوصيل الكهربائي للمحاليل الالكتروليتية دلت على وجود علاقة بين المقاومة R وفرق الجهد الكهربائي المسلط E، الاانها لم تعطي نتائج دقيقة بسبب استخدام التيار المباشر Direct current الذي يسبب ظاهرة الاستقطاب.اقترح العالم كولراوش(Kohlraush) سنة 1868 استعمال التيار المتناوب (Alternating current) لانه يساعد على منع تجمع الغازات على الاقطاب وبذلك يمكن التخلص من الاستقطاب. علاوة على ذلك ان النتائج التي تم الحصول عليها جاءت متفقة مع قانون اوم Ohms law خصوصا عند القيم الواطئة والمتوسطة لشدة المجال الكهربائي.

قانون اوم :

قانون أوم هو مبدأ أساسي في الكهرباء، أطلق عليه هذا الاسم نسبة إلى واضعه الفيزيائي الألماني" جورج سيمون أوم." فقد أجرى أوم تجارب لقياس فرق الجهد الكهربائي المطبق على دوائر كهربائية بسيطة وشدة التيار الكهربائي المار فيها، مع تغيير طول السلك المستخدم فيها. واستنتج بعض المعادلات المعقدة والتي جرى تعديلها حتى وصلت لصورتها البسيطة المبينة لاحقا. وينص هذا القانون على أن فرق الجهد الكهربائي E بين طرفي ناقل معدني يتناسب طرديا مع شدة التيار الكهربائي I المار فيه يتم تعريف النسبة الثابتة بين فرق الجهد E وشدة التيار I بالمقاومة الكهربائية ويرمز إليها بالحرف اللاتيني R .

فعند ربط قطبي بلاتين Pt مع بعضهما سوف يمر تيار كهربائي بين القطبين يقدر هذا التيار بالمقاومة الكهربائية الناتجة بين القطبين على شرط عدم وجود تفاعل بين القطبين شكل(6−1). وممكن قياس التوصيلية (مقلوب المقاومة) كمايلي:

$$I = \frac{E}{R}$$

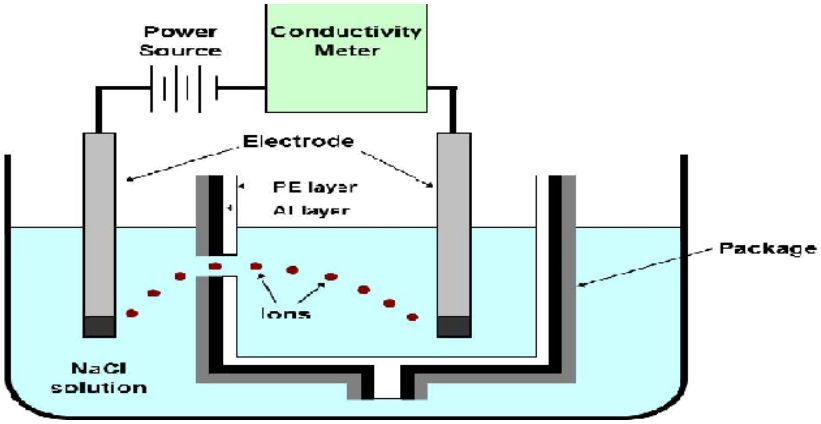
I = التيار (امبير) E = الجهد او الفولتية (فولت) R = المقاومة (اوم)

$$L = \frac{1}{R}$$

L = التوصيل الكهربائي

$$I = EL$$

وان وحدات التوصيل هي مقلوب المقاومة (Ohm^{-1}) و مقلوب الاوم اي (mho) و هو ما يسمى سيمنس Siemens .التوصيل الظاهر لمحلول معين يعتمد عكسيا على المسافة بين القطبين (d،سم) و طرديا على مساحة هذه الاقطاب (a، $سم^2$) وعلى التركيزلكل من ايونات المحلول في حجم معين من المحلول و على التوصيل الايوني المكافيء (iλ) equivalent ionic conductance.



شكل رقم (6 – 1) خلية التوصيل الكهربائي

تتحرك الايونات المشاركة في المحلول عند تسليط جهد كهربائي عليها بسرع مختلفة لذلك يكون مقدار التوصيل الايوني المكافيء لاي ايون يختلف عن الايون الاخر بالرغم من ان جميع هذه الايونات في المحلول تشارك في التوصيلية الكهربائية الكلية، ويكون التركيز مقاساً بالمكافآت بالسنتيمتر مربع الواحد. ان مقدار a/d يكون ثابت ويسمى ثيتا ((θ) او ثابت الخلية (K_{cell}) والتوصيلية(L) يعبر عنها بوساطة ثابت الخلية ومجموع الايونات المشتركة كالاتي :

$$L = a/d \sum ci\ \lambda i$$

بالتعويض وجمع الثوابت نحصل:

$$L = \sum ci\ \lambda i/1000\ \theta$$

θ= قيمة ثابتة لاي زوج من الاقطاب

∑=التوصيل الجماعي للايونات

1000= عامل ادخل للتعبير عن التركيزكصفة مميزة عن العيارية وذلك لتحويل اللترالى سنتمتر مكعب . ويمكن استبدال ∑ci λi ب CΛ حيث Λ= هو التوصيل المكافىء في حالة المركب المتأين في المحلول، وبذلك يكون التوصيل المكافىء مساويا لمجموع التوصيلات الايونية المكافئة.

$$\Lambda = \sum \lambda i$$

ملاحظة/ هناك فرق في التوصيلية بين المحلول الاصلي والكواشف والمقارنة قيم التوصيل المستحصلة باجهزة القياس المختلفة فأن التوصيل يمكن ان يستبدل بالتوصيلية conductivity او التوصيل النوعي specific conductance المعبر عنه ب K والمعروف كما يلي

$$K = L\frac{d}{a} = L\theta$$

اذن ثابت الخلية

$$\theta = \frac{K}{L}$$

و يستخدم التوصيل النوعي عندما نريد المقارنة بين تراكيز معينة و مختلفة و تحسب ثابت الخلية. ولحساب التوصيل النوعي *K* يتطلب قياس المقاومة *R* او التوصيل الكهربائي وكذلك يتطلب معرفة ثابت الخلية K_{cell} ويحسب ثابت الخلية عادة بصورة غير مباشرة من خلال قياس توصيل محلول مائي ذي تركيز معلوم لكلوريد البوتاسيوم *KCl* وذي توصيل نوعي معلوم .والجدول (1) قيم التوصيل النوعي لمحاليل*KCl* بتراكيز مختلفة حيث لوحظ انه كلما قل تركيز الايون تقل التوصيلية بالمقابل .

جدول(1) التوصيلية النوعية لمحلول *KCl* في درجة 25 م ^{0}

$Mho.cm^{-1}$	$g.kg^{-1}$
0.11134	71.1352
0.012856	7.41913
0.0014088	0.74526

التوصيلية الايونية المكافئة في التخفيف اللانهائي

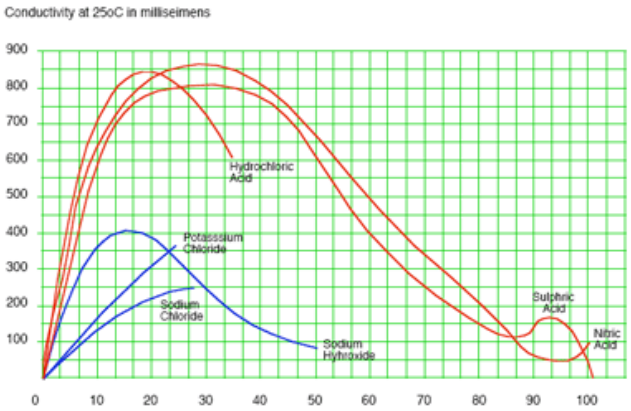
التوصيلية الايونية المكافئة λ هي صفة للايونات اذ تعطي معلومات كمية تخص مقدار عطاءها للقياسات التوصيلية جدول(2). ان قيمة λ تعتمد الى حد ما على التركيز الايوني الكلي للمحلول،الذي يزداد بزيادة التخفيف. عند تكوين الجسر الملحي يجب ان تكون سرعة الانتقائية (التوصيلية) للايون السالب مساوية او متقاربة الى سرعة الانتقالية الايون الموجب. مثل استخدام KCl او NH_4NO_3 بينما لا تكون جسر ملحي من NaCl لانه يسبب جهد التقاء السوائل اي يحدث انتقال للشحنة.ويحسب الجهد المقاس:

الجهد المقاس = الجهد بين المحلولين + جهد التقاء السوائل

جدول(2) التوصيل الايوني المكافىء لعدد من الايونات السالبة والموجبة

cation	λ^0,mhos	Anion	λ^0,mhos
H^+	73.5	OH^-	198.0
NH_4^+	73.5	Br^-	78.1
$1/2Pb^{++}$	69.5	$1/2SO_4^{-2}$	80.0
$1/3La^{+3}$	68.5	Cl^-	76.4
Ag^+	61.8	$1/2CO_3^{-2}$	69.3
Na^+	50.1	NO_3^-	71.4

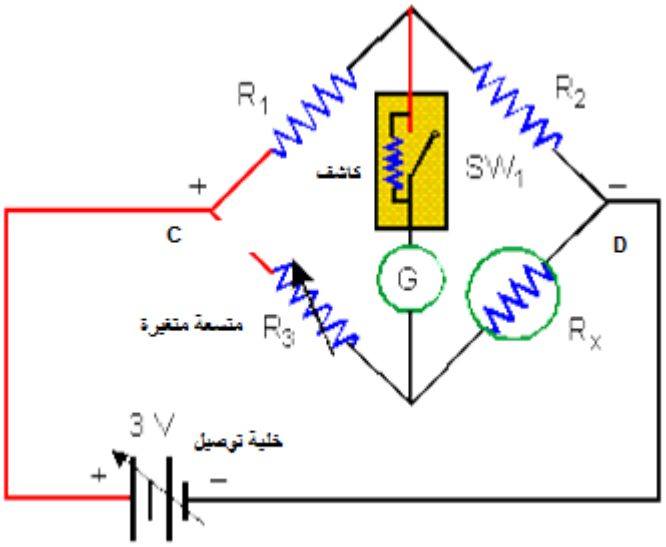
و يفضل ان يكون جهد التقاء السوائل اقل ما يمكن، اذ ان قابلية التوصيل هي مجموع التوصيلات لجميع الايونات الموجودة في المحلول. ان مقدار التوصيلية تتغير مع التركيز للمحلول اي تتناسب طرديا الى حد معين لكن بعدها تثبت التوصيلية او تبدأ تقل عندها يزداد التركيز زيادة كبيرة و ذلك بسبب التداخل الايوني (interionic attraction) شكل(6-2).



شكل رقم (6–2) منحني التوصيل لتركيز بعض الالكتروليتات

اجهزة قياس التوصيل الالكتروليتي

لقياس مقاومة محلول الكتروليتي يستخدم جهاز يستند عمله على فكرة قنطرة وتستون (Wheatstone bridge) لقياس المقاومة كما هو مبين في الشكل(6–3) .



شكل(6–3) مخطط لخلية توصيلية في قنطرة وتستون لقياس محلول الكتروليتي.

تتألف خلية التوصيل من قطبين مصنوعين من البلاتين المغطى بحبيبات من البلاتين الغروي الاسود(colloidal platinum black) التي تعمل على امتصاص الغازات الناتجة عند كل نصف دورة للتيار المتناوب. توضع خلية التوصيل عند احد اطراف قنطرة وتستون ويراعي ثبوت درجة الحرارة في الخلية بوضعها في حمام مائي او زيتي ذو

درجة ثابتة. يتم تغيير *المقاومة* R_3 حتى التيار المار خلال الكاشف (Detector) بين النقطتين C و D مساويا صفر وبذلك تكون هاتان النقطتانن متساويتين في جهدها الكهربائي لذا فعند تطبيق المعادلة التالية :

$$E = I R$$

نحصل على مقدار المقاومة لايونات المحلول والتي تنتج حسب المعادلة التالية:

$$R=R_2/ (R_1.R_3)$$

وبذلك يمكن التوصل الى قيمة المقاومة الكهربائية للمحلول الالكتروليتي ومن خلالها التوصل الى توصيلية المحلول. قياسات التوصيل الكهربائي يجب ان تتم باستخدام مذيبات ذات نقاوة عالية جدا لان اي تراكيز ضئيلة تحدث تغييرات في نتائج القياسات لذلك يجب دراستها. اضافة الى ذلك وجد ان درجة الحرارة والضغط والتركيز ذات تاثيرمهم على قياسات التوصيل.

التسحيحات التوصيلية : *Conductometric titration*

تستخدم طريقة قياس التوصيلية الكهربائية لمتابعة عمليات التسحيح المختلفة لتحيديد تراكيز المواد المراد تعينها وذلك عن طريق تعادل المواد المراد تقديرها مع بعض الكواشف القياسية المعروفة باستخدام عمليات التسحيح وندرج ادناه بعض انواع التسحيحات.

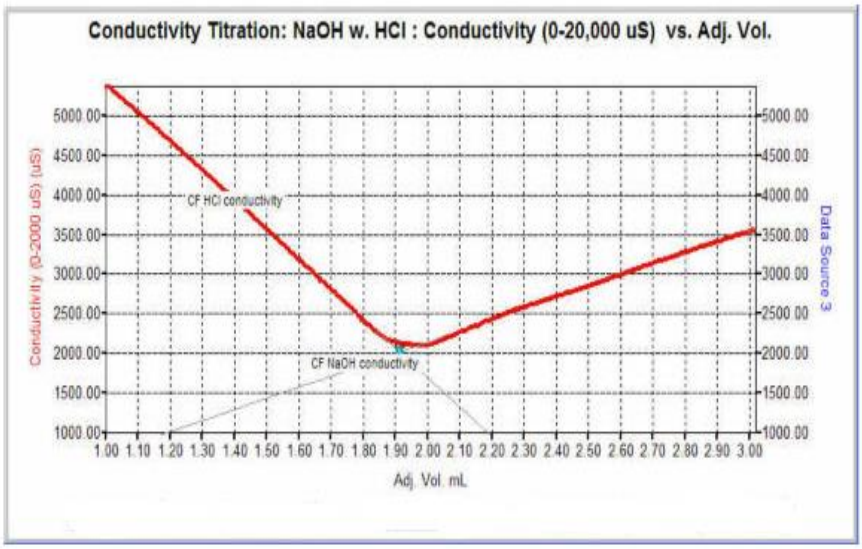
تسحيح حامض قوي مقابل قاعدة قوية

عند تسحيح محلول قياسي من حامض قوي مثل HCl (في البيكر) مع محلول قياسي لقاعدة قوية مثل NaOH (في السحاحة) يكون مقدار التوصيلية الى HCl عالية جدا لانه حامض قوي (الكتروليت قوي) ولكن عندما نبدا بالتسحيح سوف تبدل ايونات H^+ *بايونات* Na^+ وبذلك تقل التوصيلية الى حد تتبدل جميع ايونات الهيدروجين بايونات الصوديوم الى حد معين وبعدها تزداد التوصيلية للمحلول وهذا ناتج من كلوريد الصوديوم كناتج لتفاعل الحامض القوي مع القاعدة القوية وبدوره الكتروليت قوي ذو توصيل عالٍ مما يؤدي الى زيادة التوصيلية للمحلول .ان النقطة الناتجة من انتهاء استبدال جميع ايونات الهيدوجين بايونات الصوديوم ثم الزيادة الحاصلة في ايونات الصوديوم والكلورايد تسمى بنقطة انتهاء التفاعل (End Point) عمليا والتي تكون متطابقة او قريبة من نقطة التكافؤ(equivalent point) المحسوبة نظريا.ويحدث العكس عندما تكون المادة القياسية هي الحامض (السحاحة) والقاعدة في اناء

التفاعل(البيكر) مع ملاحظة ان هنالك فرقاً في التوصيلية بين المحلول الاصلي والكواشف الشكل (6–3).

$$HCl+NaOH \rightarrow NaCl+H_2O$$

$$(H^+ + Cl^-) + (Na^+ + OH^-) \rightarrow (Na^+ + Cl^-) + H_2O$$

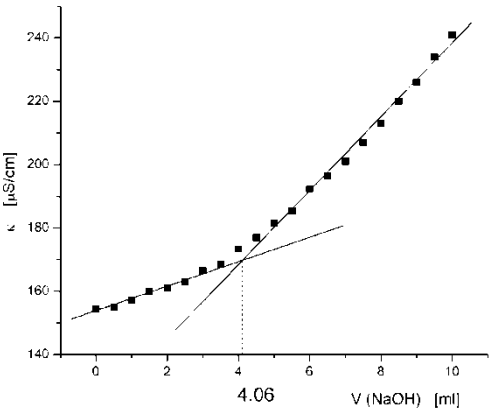


شكل رقم (6 – 4) منحني التسحيح التوصيلي لحامض قوي و قاعدة قوية

تسحيح حامض ضعيف مقابل قاعدة قوية

عند تسحيح حامض ضعيف جدا مثل حامض الخليك CH_3COOH مع قاعدية قوية NaOH ، التوصيلة في البداية ضعيفة جدا لان حامض الخليك حامض ضعيف اي تفككه قليل فعند اضافة القاعدة NaOH يتكون محلول من خلات الصوديوم وهي الكتروليت قوي بعد استهلاك ايون OH^- مع ايون H^+ للحامض مما يجعل التوصيلية تزداد مع اضافة NaOH *من السحاحة* ثم تزداد ايونات OH^- و Na^+ في زيادة التوصيلة بسبب الفائض في ايوناتها ذات التوصيل الايوني العالي الشكل(6–5).

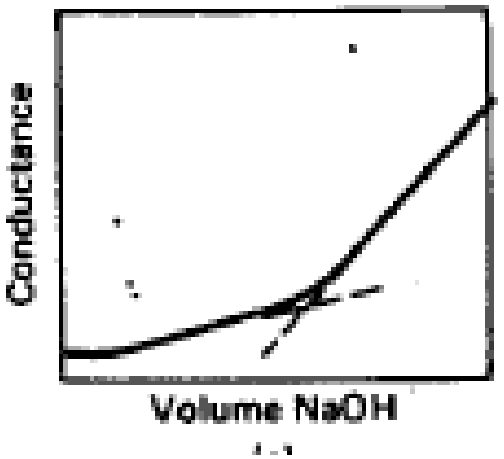
$$CH_3COO^-H^+ + Na^+OH^- \rightarrow CH_3COONa + H_2O$$



شكل رقم (6 – 5) منحني التسحيح التوصيلي لحامض ضعيف و قاعدة قوية

تسحيح حامض ضعيف جدا مقابل قاعدة قوية

عند استخدام حامض ضعيف جدا مثل حامض الفورميك (HCOOH) وهنا من بداية التسحيح تزداد التوصيلية نتيجة تكون فورمات الصوديوم (الكتروليت قوي ذو توصيلية عالية) شكل(6–6). سوف يحدث تغير في الحجم بشكل كبيرجدا وينتج منحنى مقوس ،ولتلافي هذه الحالة يجب ان تكون المادة المسححة (في السحاحة) ذات تركيز اعلى بحوالي 10مرات من المادة الموجودة في اناء التفاعل(البيكر)، ومن خلال التجارب العملية وجد ان ضرب التراكيز بمقدار (V+v)/ V وذلك لتحول كل التقوس الحاصل في المنحنى الى خط مستقيم.



شكل(6-6) منحنى تسحيح حامض ضعيف جدا مقابل قاعدة قوية

العوامل المؤثرة على التوصيل المولاري

1- تأثير ا اللزوجة

لقد توصل والدن (Walden rule) الى علاقة بين Λ^{∞} ولزوجة المذيب η كالاتي:

$$\eta\ \Lambda^{\infty} = \text{Constant}$$

الا ان هذه العلاقة تنطبق بصورة جيدة على الالكتروليتات التي تتالف من ايونات متماثلة كبيرة مثل تترامثيل امونيوم بكرات (tetramethyl ammonium picrate) في الماء وفي سيانيد المثيل CH_3CN وفي الاسيتون وفي مذيبات اخرى.

2- تأثير درجة الحرارة : تؤثر درجة الحرارة والضغط تؤثران في لزوجة المذيب المستخدم بطرق متعاكسة لذا يمكن القول ان ارتفاع درجة الحرارة يؤدي الى انخفاض في لزوجة السائل مما يؤدي الى زيادة في قيم التوصيل المولاري (قاعدة والدن) وهذا يوضح ان تاثير درجة الحراة اكبر تاثيرا بالمقارنة مع الضغط.

3-تأثير تغير المجال الكهربائي :عند استعمال مجالات كهربائية ذات شدة عالية فان المحاليل الالكتروليتية تشذ عن قانون اوم مما يجعل التوصيل المولاري الملاحظ عمليا تحت هذه الظروف تزداد عن القيمة المتوقعة له عند المجالات الكهربائية ذات لشدة الواطئة وقد تؤثر الشدة العالية على ثوابت تفكك الالكتروليتات الضعيفة.

تطبيقات التوصيلات الالكتروليتية.

1-توفر طريقة دقيقة لقياس ثابت التوازن للتفاعلات الايونية مثلا ايجاد ثابت التاين للماء وثابت التفكك للالكتروليتات الضعيفة.

2- تعيين حاصل الاذابة للاملاح الشحيحة الذوبان وغيرها من التفاعلات الايونية.

3- دراسة سرعة التفاعلات الايونية من خلال تتبع التغيير الحاصل في تراكيزها مع الزمن.

4- تستخدم في عمليات التسحيح التوصيلي للقواعد والحوامض كم ذكر سابقا.

اسئلة الفصل السادس

1- من المفضل استخدام اقطاب صغيرة الحجم لقياس ثابت الخلية ؟

2- خلية توصيلية تم املائها بمحلول KCl وكان التوصيل النوعي k 0.04 سيمنس. سم. احسب:

a – ثابت الخلية Θ اذا كانت المقاومة المقاسة تساوي 20 اوم.

b – عند ملىء نفس الخلية بمحلول 0.05 عياري من $PbCl_2$ تم الحصول على مقاومة 150 اوم. ما مقدار التوصيل المكافىء (Λ) لهذا المحلول؟

3- تجرى قياسات التوصيلة الواطئة في جو خامل (غاز النتروجين)؟

4- خلية توصيل كهربائية تحتوي على محلول 0.01 مولاري من كلوريد البوتاسيوم ربطت مع مقاومة قياس مقدارها 1000Ω وبطارية لها قوة دفع 6.00 فولت. بعد غلق الدائرة الكهربائية اعطت تيارا مقداره 0.00571 امبير. احسب:

a- مقدار توصلية النموذج

b- ثابت الخلية.

الفصل السابع
مبادئ الطرائق الطيفية Principle of Spectroscopic Methods

مقدمة لطرائق التحليل الضوئي

الإشعاع الكهرومغناطيسي أو **الموجات الكهرومغناطيسية** Electromagnetic radiation, EMR): هو أحد أشكال الطاقة تصدره وتمتصه الجسيمات المشحونة، والتي تظهر سلوك مشابه للموجات في سفرها خلال الفضاء. للإشعاع الكهرومغناطيسي حقل كهربائي وآخر مغناطيسي، متساويان في الشدة، ويتذبذب كل منها في طور معامد للآخر ومعامد لاتجاه طاقة وانتشار الموجة، اذ ينتشر الإشعاع الكهرومغناطيسي في الفراغ بسرعة الضوء.

الإشعاع الكهرومغناطيسي هو شكل خاص من الحقل الكهرومغناطيسي، تنتجه الشحنات المتحركة، ومرتبط بالحقول الكهرومغناطيسية البعيدة تماماً عن الشحنات المتحركة المنتجة لها، وبالاتي فإن امتصاص الإشعاع الكهرومغناطيسي لا يؤثر في سلوك هذه الشحنات المتحركة. يشار لهذين النوعين أو السلوكين للحقل الكهرومغناطيسي بالحقل القريب والحقل البعيد، وفقاً لهذا الاصطلاح، فإن الإشعاع الكهرومغناطيسي ببساطة هو مسمى آخر للحقل البعيد، وتنتج الشحنات والتيارات الحقل القريب بشكل مباشر وتنتج الإشعاع الكهرومغناطيسي بشكل غير مباشر وبالأصح في الإشعاع الكهرومغناطيسي كل من المجال الكهربائي والمجال المغناطيسي ينتج من تغير الآخر (يولد المجال الكهربائي المتغير مجال مغناطيسي متغير ومتعامد عليه، والعكس صحيح)، تسمح هذه العلاقة بتساوي الشدة واتساق الطور لكلا المجالين الكهربائي والمغناطيسي) تتفق قمم وقيعان المجالين على طول منحى الانتشار).

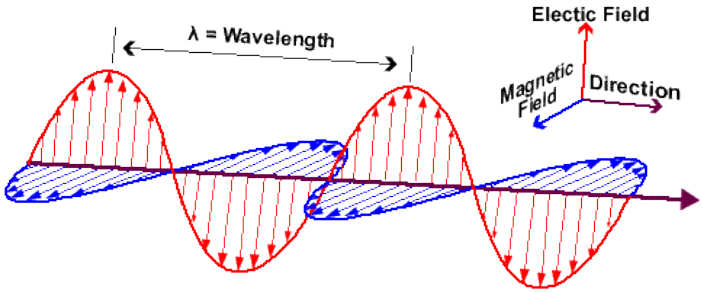
يحمل الإشعاع الكهرومغناطيسي طاقة مستمرة عبر المكان بعيداً عن المصدر، تدعى أحياناً "طاقة إشعاعية"، (لا ينطبق الوضع على جزء الحقل القريب من المجال الكهرومغناطيسي)، ويحمل أيضاً زخم حركة وزخم زاوي، ومن الممكن لهذه الطاقة وزخم الحركة والزخم الزاوي أن تنتقل للمادة التي تتفاعل معه. ينتج الإشعاع الكهرومغناطيسي من أشكال أخرى من الطاقة عند تشكله ويتحول إلى أشكال أخرى من الطاقة عند فنائه. الفوتون هو كم التأثر الكهرومغناطيسي، والوحدة الأساسية أو المكونة لجميع أشكال الإشعاع الكهرومغناطيسي. تصبح الطبيعة الكمية للضوء أكثر وضوحاً عند الترددات

العالية (فوتون ذو طاقة كبيرة)، ومثل هذه الفوتونات تتصرف مثل الجسيمات بشكل أوضح مما تفعل الفوتونات ذات الترددات المنخفضة.

في الفيزياء التقليدية، ينتج الإشعاع الكهرومغناطيسي عند تسارع الجسيمات المشحونة تحت تأثير القوى المطبقة عليهم. تعد الالكترونات هي المسؤولة عن أغلب انبعاثات الإشعاع الكهرومغناطيسي نظراً لكتلتها المنخفضة المؤدية لسهولة تسارعها بعدة طرائق. تتسارع بشدة الالكترونات المتحركة بسرعة عندما تواجه مجال لقوة ما، وبالاتي تكون مسؤولة عن إنتاج أكثر الإشعاعات الكهرومغناطيسية العالية التردد الملاحظة في الطبيعة. يمكن للعمليات الكمية أن تنتج إشعاع كهرومغناطيسي، مثل إصدار نواة الذرة لأشعة كاما واضمحلال البيون المحايد.

يصنف الإشعاع الكهرومغناطيسي وفقاً لتردد موجته، ويتكون الطيف الكهرومغناطسي وفقاً لتزايد التردد وتناقص الطول الموجي من الموجات الراديوية، تليها الموجات المايكروية، تليها الأشعة تحت الحمراء، يليها الضوء المرئي، يليه الأشعة فوق البنفسجية، تليها الأشعة السينية، وأخيراً أشعة كاما. تبدي أعين العديد من الكائنات حساسية لنافذة صغيرة ومتغيرة نوعاً ما من ترددات الإشعاع الكهرومغناطيسي تدعى الطيف المرئي.

تأثيرات الإشعاع الكهرومغناطيسي على النظم الحية (والعديد من النظم الكيميائية في ظروف درجة حرارة وضغط قياسية) تعتمد على كل من قوة وتردد الإشعاع. تنحصر تأثيرات الإشعاع الكهرومغناطيسي المنخفض التردد وصولاً إلى تردد الضوء المرئي على الخلايا والمواد العادية بالحرارة والتسخين وبالاتي تعتمد على قوة الإشعاع. وبالعكس للإشعاع ذو التردد الأعلى كتردد الأشعة الفوق بنفسجية والأعلى منها، فإن الضرر للمواد الكيميائية وللخلايا الحية يكون أكبر بكثير من مجرد تسخين بسيط بسبب قدرة الفوتونات المفردة في مثل هذه الترددات على تدمير الجزيئات الفردية كيميائياً.

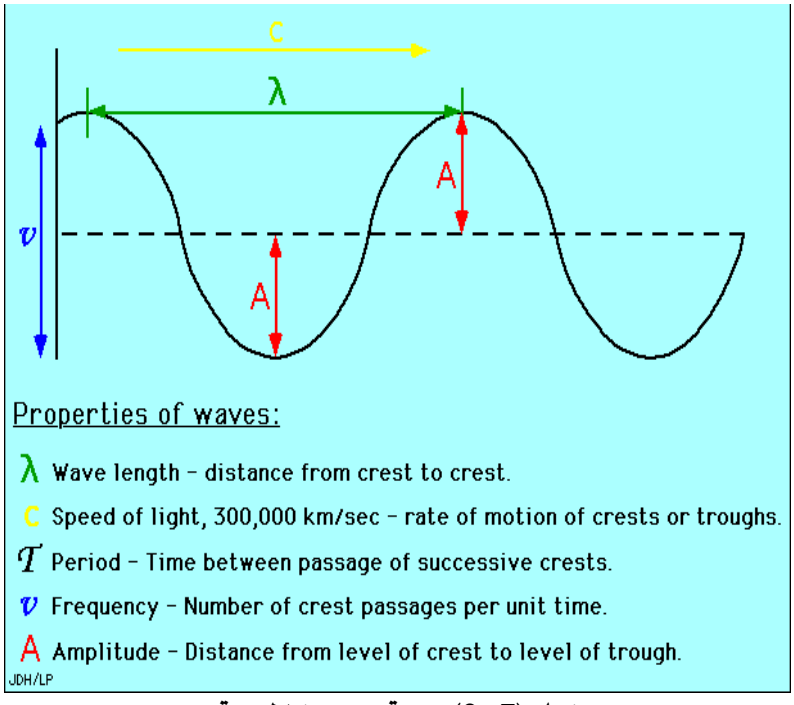


شكل (7–1) الموجة الكهرومغناطيسية ناتجة من تعامد المجالين الكهربائي والمغناطيسي.

اكتشاف الموجات الكهرومغناطيسية

يرجع الفضل في اكتشافها إلى العالم جيمس ماكسويل الذي وضع فرضية نشوء **الموجات الكهرومغناطيسية** سنة 1864، فقد كان معلوما حسب قانون فراداي أن المجال المغناطيسي المتغير ينتج مجالاً كهربائياً متغيراً. فقام ماكسويل بصياغة قوانين حركة تلك الموجات الكهرومغناطيسية وهي المعروفة بمعادلات ماكسويل. ثم أثبت هنريك هيرتز لاحقا صحتها(أن المجال الكهربائي المتغير ينتج بدورة مجالا مغناطيسيا متغيراً) وبالعكس فالمجال الكهربائي يولد أيضاً مجالاً مغناطيسياً. وهكذا تنشأ الموجات الكهرومغناطيسية بقسميها الكهربائي والمغناطيسي. وهي تستطيع قطع مسافة كبيرة جدا وبسرعة كبيرة جداً هي سرعة الضوء دون أن تعاني اضمحلالاً في الفضاء. ولأن سرعة الموجات الكهرومغناطيسية التي تنبأ ماكسويل في المعادلة تتزامن مع سرعة الضوء المقاسة، مما استنتج ماكسويل بأن الضوء نفسة هو موجة كهرومغناطيسية.

يمكن تعريف طول الموجة λ بأنها المسافة بين قاعين متتاليين للموجة أو المسافة بين قمتين متتاليتين للموجة. كما في الشكل (7-2).



شكل (7-2) موجة كهرومغناطيسية

تنتقل الأشعة الكهرومغناطيسية في الفراغ بسرعة تساوي 3×10^8 m/sec وهذا الرقم يعرف عادة بسرعة الضوء.

التردد υ frequency: وهو يمثل عدد الموجات في الثانية الواحدة والوحدة المستعملة هي الهيرتز HZ وهو يساوي دورة واحدة في الثانية. اما وحدات الطول الموجي فهي المايكروميتر mμ اذ ان $1\mu m=10^{-6}$ m والنانوميتر nm وهو يساوي $1nm=10^{-9}$ m والانكستروم A^0 والذي يساوي $1A^0=10^{-10}$ m في الدراسات الطيفية.

ان حاصل ضرب الطول الموجي مع التردد يعطي سرعة الشعاع

$$\lambda\times\upsilon = c$$

اذ ان c تمثل سرعة الأشعة الكهرومغناطيسية (سرعة الضوء) وتكون سرعة الأشعة الكهرومغناطيسية في مادة شفافة كالآتي:

$$\text{سرعة الضوء} = n = 300\times10^8$$

اذ ان n تمثل معامل انكسار المادة refractive index ويعتمد معامل الانكسار على الطول الموجي وعلى المادة التي تمر من خلالها الأشعة الكهرومغناطيسية التي تكون على شكل جسيمات صغيرة تدعى بالفوتونات، وان طاقة الفوتون تتناسب مع التردد وهي تساوي:

$$\text{طاقة الفوتون } E= h\upsilon$$

اذ ان h ثابت بلانك وتساوي 6.62×10^{34} J.sec.

ويشار إلى الأشعة بدلالة العدد الموجي wave number وهي عدد الموجات في السنتيمتر الواحد ووحدة القياس هي cm^{-1}.

$$\acute{\upsilon} = 1/\lambda$$

وعند ذلك يمكن التعبير عن طاقة الأشعة الكهرومغناطيسية كالاتي:

$$E = hc\acute{\upsilon} = h\frac{c}{\lambda}$$

الطيف الكهرومغناطيسي electromagnetic spectrum

ولكل منطقة من مناطق الطيف الكهرومغناطيسي خصائص تميزها عن بعضها البعض وبناء عليه نتجت تطبيقات مختلفة لهذه الأشعة وللعلم فإن منطقة الطيف المرئي هي التي منحنا الله سبحانه وتعالى القدرة على رؤيتها وهي المنطقة التي تستجيب لها شبكية العين لتتمكن من رؤية الاشياء من حولنا.

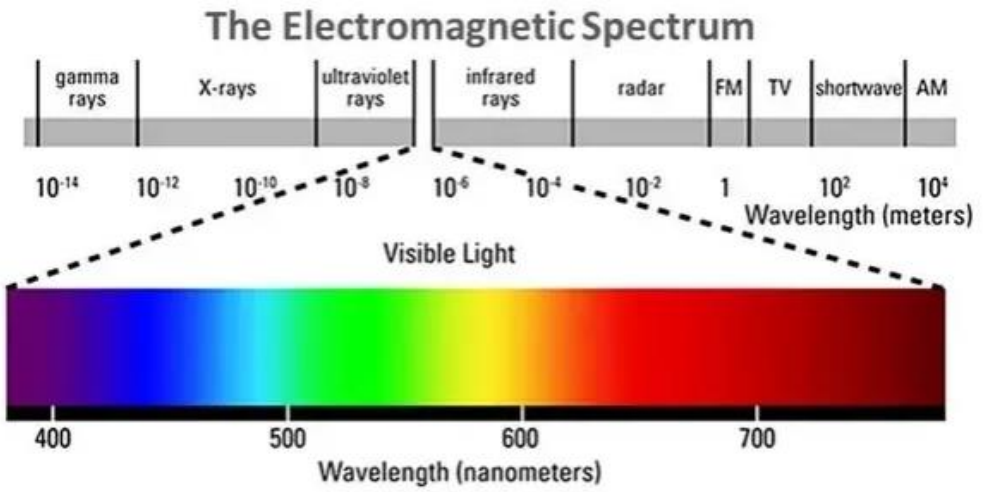
جدول (7−1) مناطق الطيف الكهرومغناطيسي

الطيف الكهرومغناطيسي

Region	Wavelength (Angstroms)	Wavelength (centimeters)	Frequency (Hz)	Energy (eV)
Radio	$> 10^9$	> 10	$< 3x10^9$	$< 10^{-5}$
Microwave	10^9- 10^6	10- 0.01	3×10^9- $3x\ 10^{12}$	10^{-5}- 0.01
Infrared	10^6- 7000	$0.01^{-7}x10^{-5}$	3×10^{12}- $4.\ 3 \times 10^{14}$	0.01 – 2
Visible	7000- 4000	7×10^{-5}- 4×10^{-5}	$4.\ 3 \times 10^{14}$- $7.\ 5 \times 10^{14}$	2 – 3
Ultraviolet	4000- 10	4×10^{-5}- 10^{-7}	$7.\ 5 \times 10^{14}$- 3×10^{17}	3- 10^3
X- Rays	10- 0.1	10^{-7}- 10^{-9}	3×10^{17}- 3×10^{19}	10^3- 10^5
Gamma Rays	< 0. 1	$< 10^{-9}$	$> 3 \times 10^{19}$	$> 10^5$

يوضح الجدول (7–1) خصائص الطيف الكهرومغناطيسي لمختلف مناطقة ويلاحظ ان جميع اجزاء الطيف من أشعة كاما إلى الامواج الراديوية يمكن استخدامها لاغراض تحليلية وان المنطقة المرئية من الطيف اكثر الطيف استخداما وذلك لان التحليل في هذه المنطقة يتضمن محاليل ملونة وضوء ملون مرئي.

نستنتج من ذلك انه كلما زاد التردد ازدادت الطاقة وعليه فإن طاقة أشعة كاما اكبر ما يمكن في الطيف الكهرومغناطيسي وكما نعلم ان جسم الانسان يتحمل طاقة اقصاها طاقة الطيف المرئي وتعتبر طاقة الطيف فوق الازرق ضارة وتسبب حرق لخلايا الجسم وكذلك طاقة أشعة اكس تستطيع اختراق جلد البشري والتعرض لها يسبب خطورة كبيرة.



شكل (7-3) الطيف الكهرومغناطيسي

هناك ثلاثة انواع من مستويات الطاقة (الدورانية – الاهتزازية – الالكترونية)، ويكون ترتيب مستويات الطاقة لعمليات الانتقال الثلاث كما يلي:

الالكتروني > الاهتزازي > الدوراني electric< vibration <Rotation

تحدث الانتقالات الدورانية في حدود طاقة واطئة جداً (الاطوال الموجية طويلة) بينما تحتاج الانتقالات الاهتزازية طاقة اعلى عادة. اما الانتقالات الالكترونية فتحدث عند طاقة عالية ايضاً (في المنطقة المرئية وفوق البنفسجية).

انواع الانتقالات: في المنطقة المرئية وفوق البنفسجية، يسلك الضوء المرئي سلوك الضوء فوق البنفسجي في كثير من مظاهرة، اذ ان كلاهما ينتج عن إمتصاصه إثارة إلكترونية في الجزيئات. كما أن أغلب الأجهزة التي تستخدم في طرائق التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية هي نفسها التي تستخدم في طرائق التحليل الطيفي في مجال الأشعة فوق البنفسجية. لذا فقد جرت العادة على دراستهما معاً. ويغطي هذان الطيفان المجال من 200 إلى 800 نانوميتر (ميلي ميكرون).

مطيافية فوق البنفسجية والمرئية UV and Visible Spectroscopy: المطيافية الإلكترونية هي أحد أنواع الدراسات الطيفية والتي تعتمد على إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية، ولقد سميت بهذا الإسم لأن إمتصاص الأشعة في هاتين المنطقتين يؤدي إلى إثارة الإلكترونات في الجزيء الذي يمتص تلك الأشعة.

الإثاره الإلكترونية:

كما هو معروف تتكون الجزيئات من ذرات كل منها يتألف من نواة ومن إلكترونات تدور حولها في مستويات طاقة محددة. فإذا إمتصت الجزيئات طاقة معينة انتقلت الإلكترونات من مستوى الطاقة الأدنى (ground state) إلى مستوى طاقة أعلى (excited state). وهذا ما يدعى بالإثارة الإلكترونية. ولكي يسبب شعاع ضوئي إثاره الكترونية ينبغي أن يكون هذا الشعاع في مجال الأشعة المرئية أو فوق البنفسجية. وتردد الشعاع الممتص يرتبط بالطاقة بالعلاقة:

$$E = h\upsilon$$

هذا ويوجد في الجزيئات العضوية ثلاث أنواع من الإلكترونات الأولى إلكترونات مشتركة في رابطة مشبعة كالرابطة بين الهيدروجين والكربون، والكربون والكربون في المركبات المشبعة وتسمى هذه بـ(رابطة σ) وكمية الطاقة اللازمة لإثارة الإلكترونات الرابطة σ أكبر بكثير من طاقة الأشعة فوق البنفسجية لذا فإن المركبات المشبعة لا تمتص في هذا المجال لذا تستعمل عادة كمذيبات جيدة. والنوع الثاني من الإلكترونات تلك التي تشترك في رابطة غير مشبعة. وهذه المركبات تحتوي عادة على رابطة σ ورابطة π وكمثال على المركبات التي تحتوي على ثلاث روابط متناوبة (conjugated) البنزين وهيكساتترايين المتناوب. والنوع الثالث من الإلكترونات هي التي لا تشترك بروابط بين الذرات وهذه تدعى بإلكترونات n الحرة. والمركبات العضوية المشبعة لا تحوي إلكترونات n لأن كل الإلكترونات في المستويات الخارجية للكربون والهيدروجين تشترك في الروابط الكيميائية. أما المركبات العضوية التي تحوي النيتروجين والأكسجين والكبريت والهالوجينات فإنها تحتوي على إلكترونات n ويمكنها أن تمتص الأشعة المرئية أو فوق البنفسجية لأن هذه الأشعة يمكنها إثارة الإلكترونات n.

والخلاصة أن الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية يمكن أن يمتصها مركب يحتوي على ذرة نيتروجين أو أكسجين أو هالوجين أو كبريت أو يحوي على رابطة غير مشبعة وتسمى المجموعة التي تحوي ذلك بالمجموعة الماصة أو الكروموفور (chromophore).

الأطياف الإلكترونية Electronic Spectra:

الطيف الإلكتروني لمركب ما عبارة عن منحنى يوضح تغير شدة الإمتصاص (الإمتصاصية) مع تغير طول موجة الأشعة المارة في محلول المركب تحت الدراسة. ويهمنا من هذا المنحنى معرفة طول الموجة التي تكون عندها شدة الإمتصاص أكبر ما

يمكن ويرمز لها بالرمز λ_{max} وكذلك معامل الإمتصاص المولي ε عند هذه الموجة. وترتبط شدة الإمتصاص (A) بتركيز المحلول (C) وطول الخلية (L) بالمعادلة الاتية:

$$A = \varepsilon cl$$

وتعرف هذه المعادلة أحياناً بإسم قانون لامبرت– بير ومنها يتضح أن شدة الإمتصاص للمركب (أو إمتصاصية المركب) تتناسب تناسباً طردياً مع كل من التركيز المولي (C) وطول الخلية (L)، وأن معامل الإمتصاص المولي لمركب ما يساوي شدة الإمتصاص لمحلول المركب الذي تركيزة1 مول/ لتر وموضوع في خلية طولها 1سم.

ويعتبر كلاً من λ_{max} وε من الثوابت الفيزيائية التي تميز المركبات العضوية عن بعضها. ولا تصلح هذه العلاقة في حالة التركيزات المرتفعة جداً. لذا ينصح في التطبيق العملي إستعمال المنحنى العياري (Calibration curve) للإمتصاص بدلالة التركيز عند قمة الإمتصاص الضوئي للمركب. كما يمكن تقدير الكثير من المواد التي لا تمتص الضوء مباشرة وذلك بإضافة مركبات معينة لتكون متراكبات ماصة للضوء أوتكون مجموعة إمتصاص chromophore.

<u>أنواع الالكترونات والانتقالات</u>

من المعلوم أن جميع مركبات الكاربون الهيدروجينية المشبعة محققة بفضل الكترونات روابط من نوع σ ولا يمكن الحصول على الطاقة اللازمة لفصل هذه الالكترونات أو انزياحها (حوالي 185 سعرة/ مول) إلا في مجال فوق البنفسجي البعيد ولهذا فإن الانتقالات القفزية لهذه الالكترونات غير ملاحظة في مجال الفوق بنفسجي القريب.

إن الالكترونات n هي الالكترونات الحرة العائدة للذرات غير متجانسة مثل النتروجين، الأكسيجين والكبريت، أي أنها الالكترونات غير الرابطة. تخضع هذه الالكترونات لنوعين من الانتقالات القفزية:

1– n إلى π^* كما في C=O.

2– الانتقال من n إلى المحط σ^* كما في الاثيرات والكحولات والأمينات.

تمتص الاثيرات بقوة في ما فوق البنفسجي البعيد، إلا أنها تصبح شفافة في مجال ما فوق البنفسجي القريب. لهذا فإنها تستخدم كمذيبات في هذا المجال. ومن الطبيعي أن يكون لوجود الالكترونات n فعلاً أوكسوكروميا على المجموعة الكروموفورية الأخرى.

تتألف الروابط غير مشبعة للمجموعات الكروموفورية من رابطة بسيطة (الكترونات (σ) ومن رابطة أو أكثر من نوع π (الكترونات π).

إن الثانية هي الأقل ارتباطاً، وبالاتي هي الأكثر خضوعا للانتقال القفزي في أطوال موجة أكبر. ومع ذلك فإن المركبات التي تحتوي على مجموعة إثيلينية أو إستيلينية أونتريلية. لا تمتص إلا في المجال مافوق البنفسجي البعيد. في حين أن المركبات التي تحتوي علىمجموعة كربونيل أو كربوكسيل أو نتريت أو سلفوكسيد. تمتص عند أطوال موجية أعلى من 200 نانومتر (ميلي ميكرون). ينتج الامتصاص الشديد في ما فوق البنفسجي البعيد من الانتقال القفزي π إلى π* ويبدو في ما فوق البنفسجي القريب امتصاص ضعيف للانتقال القفزي n إلى π* ويمكن أن يحدث هذان الانتقالان على زمرة الكربوني لوحدها. مثال: الاثيلين $CH_2=CH_2$ يعمل الانتقال القفزي المحتمل على نقل الكترون π إلى المستوى π* ويتم عند طول موجة 180 نانومتر، لكنة لا يلاحظ إلا بأجهزة خاصة.

الأسيتون CH_3COCH_3 يؤدي الانتقال القفزي الأول المحتمل إلى نقل الالكترون n من محط لارابط على الأكسيجين إلى محط ضد الربط π* (270 نانومتر) أما الانتقال القفزي الثاني المحتمل فيؤدي إلى نقل الالكترون من المحط π إلى π* ويتطلب هذا الانتقال طاقة أعلى في منطقة من الطيف صعبة الوصول إليها غالباً (160 نانومتر) من الطبيعي أن يسبب الفعل الالكتروني المتبادل بين مجموعتين من الذرات تغيرات في الطيف الالكتروني. يتم الفعل المتبادل من أجل نمطين بنيويين:

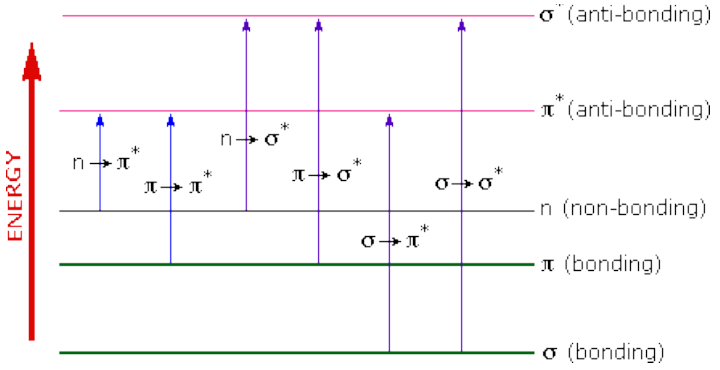
1- البنية π –π اذ تبدي المجموعتان الكترونات π متجاورة.

2- البنية π –n اذ تبدي إحدى الذرات الكترونات n غير رابطة.

وتؤثر على المجموعة التي تحتوي الالكترونات π وخاصة عندما تكون هذه الذرة مجاورة للمجموعة المعتبرة: ترافق بين الالكترونات n والالكترونات π.

هكذا يؤدي اقتراب اوكسوكروم من كروموفور ترافق من النمط (π -n) إلى انزياح حزمة الامتصاص وزيادة شدتها بحيث يمكن ملاحظة الامتصاص في ما فوق البنفسجي

القريب. ولهذا فإن معظم المركبات التي تمتص بصورة واضحة عند أطوال الموجة الأعلى من 200 نانومتر تبدي جملا مترافقة π -π، n- π.



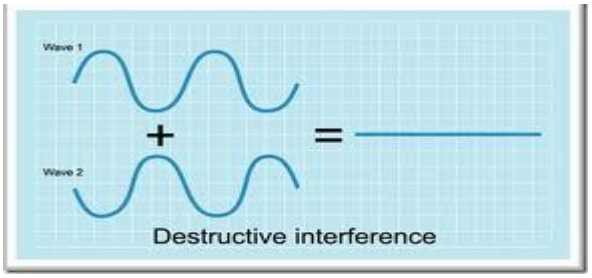
$$\pi \rightarrow \pi^*, n \rightarrow \pi^*, \sigma \rightarrow \sigma^*, n^* \rightarrow \sigma^*$$

انتقال الشحنة (Charge transfer) انتقال مجال الليكاند (ligand transfer)

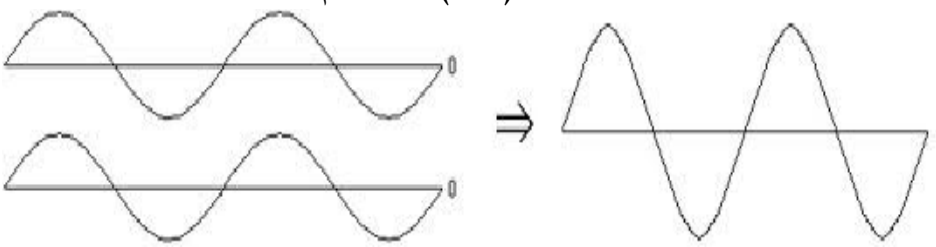
- الازاحة الباثوكرومية أو الازاحة الحمراء batho chromic or red shift وتتضمن ازاحة اعلى امتصاص نحو اطوال موجية اطول.
- الازاحة الهيبسوكرومية أو الازاحة الزرقاء hypso chromic or blue shift وتتضمن ازاحة اعلى امتصاص نحو اطوال موجية اقصر.

التداخل interaction

التداخل أو **التراكب** ظاهرة فيزيائية تحدث بين الموجات المقترنة. فيحدث بين هذه الموجات تراكب أو تداخل نتيجة صدورهما من مصدر واحد أو تقاربهما في قيمة التردد. ويكون هذا التداخل إما **تداخل هدام** أي أن الإشارة الأولى تدمر الأخرى وتوهنها ويكون ذلك حين تكون إزاحة الطور 180 درجة، فحينها تكون الموجة المشكلة صفرية المطال. ويمكن أن يكون **تداخلا بناء**، أي أن تعزز الواحدة الأخرى ويشكلان موجة ثالثة مضاعفة المطال ويكون ذلك عندما يكون للموجتين نفس طور الموجة.



شكل (7-4) تداخل قدام



شكل (7-5) تداخل بناء

الاجهزة Instrumentation

جهاز التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية وفوق البنفسجية:

شكل (7-6) جهاز طيف الأشعة المرئية فوق البنفسجية

يسلك الضوء المرئي سلوك الضوء فوق البنفسجي في كثير من مظاهرة اذ ان كلاهما ينتج عن امتصاصه إثارة إلكترونية في الجزيئات. كما أن أغلب الأجهزة التي تستخدم في طرائق التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية هي نفسها التي تستخدم في طرائق التحليل الطيفي في مجال الأشعة فوق البنفسجية. لذا فقد جرت العادة على دراستهما معاً. ويغطي هذان الطيفان المجال من 200 إلى 800 نانوميتر (ميلي ميكرون).

مطيافية فوق البنفسجية والمرئية UV and Visible Spectroscopy: المطيافية الإلكترونية هي أحد أنواع الدراسات الطيفية والتي تعتمد على إمتصاص الأشعة فوق

البنفسجية أو المرئية، ولقد سميت بهذا الإسم لأن إمتصاص الأشعة في هاتين المنطقتين يؤدي إلى إثارة الإلكترونات في الجزيء الذي يمتص تلك الأشعة.

- مكونات جهاز UV- Visible الأساسية:

1 - المصدر الضوئي

2- خلية العينة

3- موحد طول الموجة

4- الكشاف

5- الشاشة (Monitor)

المصادر الضوئية: يوجد نوعين من المصادر الضوئية، الأول عبارة عن مصباح تنجستن (lamp Tungsten) بالنسبة لقياس الأشعة المرئية (Visible) في المدى (350-800)، والمصدر الضوئي الثاني هو عبارة عن مصباح ديوتيريوم lamp D2 وهو مصباح لا يفض مشاهدتها بالعين المجردة لأنها يمكن أن تسبب العمى المؤقت نظراً لقوة إشعاعها. هذا بالنسبة لقياس الأشعة فوق البنفسجية في المدى 200- 350.

خلية العينة Sample Cell

وهي إما أن تكون مصنوعة من الزجاج أو تكون مصنوعة من الكوارتز، والكوارتز أفضل لأن الخلية المصنوعة من الزجاج من ضمن مكونات صنعها الصوديوم الذي يمتص في مجال UV لذلك يفضل إستخدام خلايا مصنوعة من الكوارتز وهذه الخلايا لا يكون من ضمن مكونات صنعها الصوديوم.

موحد طول الموجة Monochromator:

وهو عبارة عن منشور زجاجي وهذا المنشور كان يستخدم في الأجهزة القديمة أما حالياً في الأجهزة الحديثة للتحليل الطيفي أصبح هنالك ما يسمى بالمحزوز، ووظيفته انه يقوم بفحص العينة لتحديد الطول الموجي الذي حدث عنده أعلى إمتصاصه فعندما يسلط الضوء سواءً ضوء من مصباح تنجستن لقياس الأشعة المرئية أو من لمبة ديوتيريوم لقياس الأشعة فوق البنفسجية تتجه للموحد طول الموجة حزم كثير من الضوء يقوم Monochromator بعملية إستقبال الحزمة التي تكون زاوية سقوطها مناسبة على موحد طول الموجة ومن ثم يقوم موحد طول الموجة بعملية إنعكاس للأشعة الساقطة عليه موجها إياها إلى مرشح يقوم هذا الفلتر بإختيار الحزمة المناسبة بشكل دقيق جداً ومن ثم يستمر انتقال الحزمة إلى مرأة عاكسة تقوم بإرسال الحزمة الضوئية الساقطة إلى خلية العينة ومن ثم إلى الكشاف.

مصادر الاشعاع:

ان مصادر الاشعاع في المنطقة المرئية والفوق بنفسجية في الطيف الكهرومغناطيسي يمكن ان تشمل على المصادر الحرارية التي تكون فيها الأشعة نتيجة الحرارة العالية، والمصادر التي تعتمد على التفريغ الكهربائي خلال الغازات.

- **المصادر الحرارية** Thermal source

في المنطقة المرئية يكون مصباح خيط التنكستن اكثر المصادر الحرارية شيوعا وتنبعث الأشعة في هذا الخيط المسخن كهربائيا إلى درجة 2900 k ويمكن استعماله مصدراً للأشعة من (320–2500 nm) وهي تتضمن المنطقة المرئية (400-800 nm) ولهذا المصباح بعض المساوىء. انه يبعث الجزء الاكبر من طاقته في منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة.

وعند درجة الحرارة التي يعمل بها هذا المصباح 3000 كلفن يكون 15% من طاقة الاشعاع فقط في المنطقة البنفسجية وعند 2000 كلفن 1% وعند زيادة درجة الحرارة إلى اكثر من 3000 كلفن فان الطاقة المنتجة تزداد ويرافق ذلك ازاحة اعلى امتصاص إلى اطوال موجية اقصر. اما في منطقة الأشعة تحت الحمراء يستخدم مصدر حراري يدعى كلوبير Globar ويتألف من قضيب اسطواني طولة 5 سم وقطرة 6- 8 mm من كاربيد السليكون المسخن كهربائياً في (1500-2000 k).

- **المصادر المفرغة كهربائياً** Electrical discharge

1. مصباح الهيدروجين المفرغ
2. مصباح الديتريوم
3. مصباح الزينون المفرغ
4. قوس الزئبق

Globar source

tungsten lamp

شكل (7-7) مصباح خيط التنكستن(على اليمين) ومصدر كلوبار للأشعة تحت الحمراء(على اليسار)

- **المصادر الخطية** Line source

المصادر التي تبعث عددا من الخطوط الدقيقة تجد استعمالا في مطياف الامتصاص الذري ومطياف رامان، وفي دراسة الانكسار والاستقطاب، وفيما يلي بعض هذه المصادر.

1. مصابيح ابخرة الفلزات Metal vapour lamps: يعتبر مصباح الزئبق ومصباح الصوديوم من اهم المصادر الخطية المعروفة ويتكون المصباح من غلاف شفاف داخلة بخار العناصر تحت ضغط واطيء تتم عملية الاثارة للخطوط الرئيسية عن طريق تسليط جهد بين قطبين مثبتين في الغلاف فيحصل الحث نتيجة تكون الكترونات فيتم تكون البخار نتيجة التسخين ثم تستمر عملية التفريغ.

2. مصابيح الكاثود المجوفة Hollow cathode lamp: يصنع الكاثود من الفلز المراد انتاج شعاع رنينة الخطي، مثلا تصنع الكاثود من فلز الزنك Zn عندما نريد شعاع رنيني Zn الخطي وهكذا.

3. شعاع الليزر Laser: وهذا المصطلح يرمز إلى الكلمات الاتية:
L=light وA=Amplification، S =stmulate= E =Emission وR= Radiation وهناك ثلاثة انواع من اشعاعات الليزر الخطية هي:-

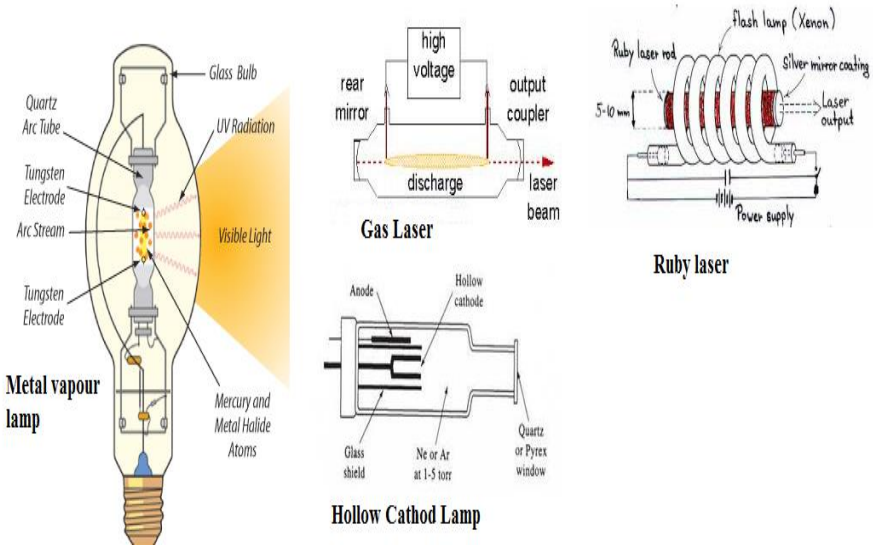
a- قضيب أو ليزر الياقوت Ruby laser: ويصنع ليزر الياقوت من قضيب من الياقوت وهو عبارة من مزيج من اوكسيد الالمنيوم Al_2O_3 وقليل من اوكسيد الكروم Cr_2O_3 فعند تسليط ومضات ضوئية من مصدر خارجي كمصباح الزينون المفرغ فأن غالبية ذرات الكروم تتحفز ومن ثم تعود إلى مستوى الطاقة شبة المستقر. شعاع الليزر يمر بصورة

مستقيمة داخل الانبوب أو القضيب. ان الطول الموجي لليزر الناتج هو 694 nm ولونه احمر يسمى Red Laser وصفاته:

1. احادي الطول الموجي.
2. متماسك جداً اي لا يتشتت باتجاهات مختلفة عند انتقاله من نقطة إلى اخرى. اي طوله الموجي يحافظ على نفس الطور الفيزيائي الذي تخرج منه اي يحافظ على طاقته (ذو طاقة عالية). ولهذا السبب يستخدم لاغراض التسخين الموضعي أو الموقعي، ويستخدم لاغراض الاضاءة الجيدة وللاغراض التحليلية.

b – ليزر الغاز Gas laser: هنالك عدد من الغازات التي يمكنها توليد الليزر عن طريق التفريغ الكهربائي للغاز. مثل الهيليوم –النيون– الاركون – ثنائي اوكسيد الكاربون.

أ. ليزر الصبغة Dye laser: يمكن الحصول من احد المواد أو المركبات المتفلورة مثل المركبات العضوية المسماة بالفلوروسين Fluorescein أو الرادومين Radamine يمكن احداث الانبعاث الليزري ضمن طيف الانبعاث للمادة ويمكن اختيار الطول الموجي بواسطة موشور Prism أو محزز الحيود diffraction greeting.



شكل (7–8) مصادر الاشعاعات الخطية

اختيار الاطوال الموجية Wave length choice

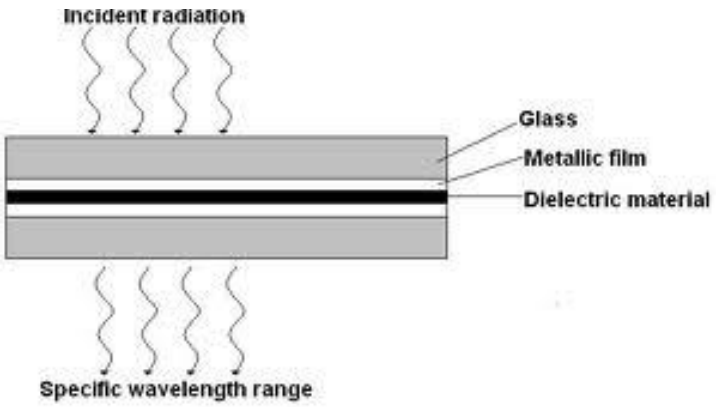
يمكن الحصول على طول موجي خطي من بين الطيف المستمر وذلك بامرار الاخير في مرشح زجاجي أو بلاستيكي أو امراره بموحد اللون monochromater.

- **المرشحات الزجاجية Glass filter**

وتقسم إلى قسمين:-

1. زجاج ملون colour glass .
2. زجاج تداخل Interference filters.

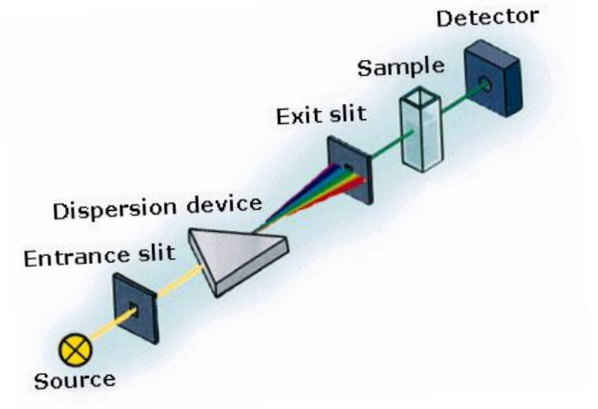
زجاج التداخل هو عبارة عن قطعة زجاجية صغيرة مصنوعة من الزجاج البصري مغطاة بطبقة من فلوريد المغنيسيوم MgF_2 يلي تلك القطعة طبقة من الفضة Ag ثم بعدها طبقة اخرى من الزجاج البصري شكل(7-9) وجميع الطبقات شفافة نختار الطول الموجي لاغراض التحليل.



شكل (7-9) زجاج التداخل

ان عزل طول موجي معين على المرشحات التداخلية انقى من المرشحات الملونة التي تظهر طيف من النوع الاخير ولكنه غير نقي.

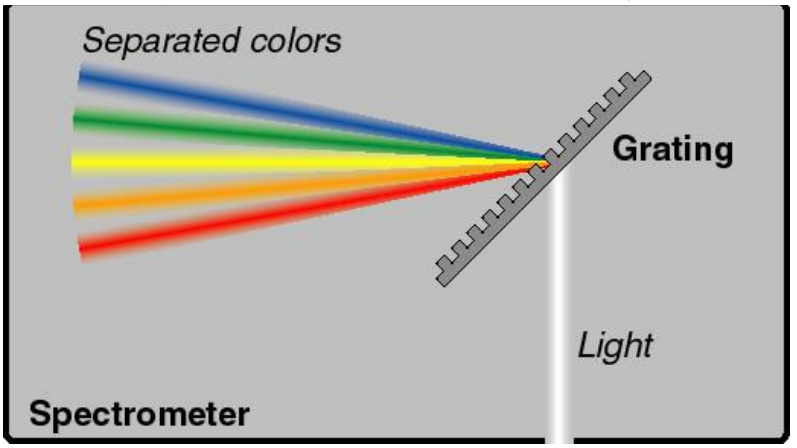
الوسيلة الحديثة لعزل طيف خطي احادي وذلك باستخدام موحد اللون الذي يتكون من فتحة دخول تسمى Entrance slit ثم مرآة mirror ثم موشور ثم عدسة أو مرآة ثم فتحة خروج Exit slit شكل(7- 10).



شكل (7-10)

اذا رفعنا فتحة الخروج ووضعنا بدلاً عنها فيلما فيطلق على الجهاز اسم Spectrograph فائدة الفلم لتصوير الموجة المحللة.

وعند استخدام المحزز Grating تكون المسافات بين الأشعة الصادرة من المحزز تكوني متساوية اي تكون الحزم الطيفية الناتجة من المحزز تكون متساوية.



شكل (7-11) المحزز الضوئي

اما الاطياف الناتجة من الموشور prism تكون غير نقية لان عرض الحزم تكون غير متساوية. لذا يفضل استخدام المحززشكل(7-11) لتفريق الأشعة لكن هنالك نقص في المحزز اذ ان المحزز يعطينا (رتب طيفية) وهذا ما لا نرغب به فنعمل على عزل الاطوال أو الرتب التي لا نرغب بها وذلك بوضع موشور، اما الطيف الخارج من المحزوز وهذا الموشور الصغير تسمى order sorter اي عازل للرتب.

المحززات Gratings

تتكون المحززات من سطح عاكس قوي مغطى بالألومنيوم aluminized، ويقسم المحزز بعدد كبير من الخطوط المتوازية المتساوية البعد 600- 2000 خط/ ملليمتر تبعاً لنطاق الطيف المستهدف، وعند سقوط الاشعاع على سطح المحزوز فان الأشعة المتوازية والتي تكون في نفس الاتجاه وفي نفس الوقت تقوي بعضها البعض حيث تتلاحم جميعها معا لأنها ذات طول موجي واحد وبذلك تكون متوافقة inphase، وقد يحدث تراكم overlapping كما في النطاق 200 or 300 millimicron (mμ) مع الاشعاعات التي في نطاق 600 millimicron اذ يمكن تفادية بالترشيح أو بالتحزيز الملائم أي بملاءمة الـ blaze angle يمكن تركيز ما يقرب من 75% من الاشعاع الساقط وبدوران المحزز توجه الأشعة على فتحة الخروج.

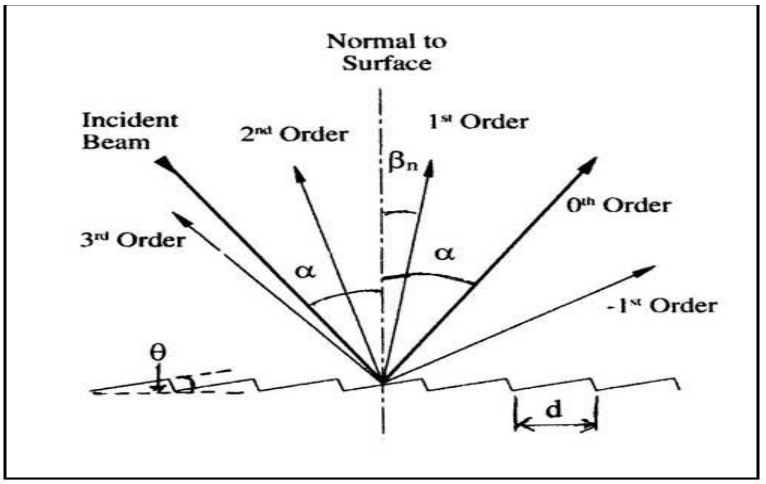
والمحزوز له ثلاث انواع:-

1. نفاذي مستوي.
2. محزوز حيودي.
3. محزوز مجسم.

المحزوز النفاذي هو قطعة من البلاستك تحتوي على عدد من الحزوز وان عدد الحزم/ سم تسمى بالكثافة الخطية للمحزوز، شكل(7-12).

الكثافة الخطية للمحزوز = عدد الحزم/ سم

وهناك معادلة تسمى (بمعادلة المحزوز Grating equation)



شكل (7-12)

diffraction angle θ = زاوية الحيود.

$a = d \sin \theta$

a = الفرق بين اطوال الحزم الخارجة من المسامات الشفافة.

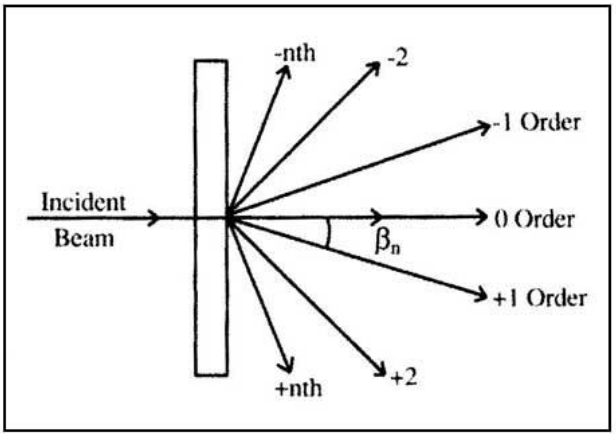
d= فسحة المحزوز (المسافة بين خطين متتاليين).

$n\lambda = d \sin \theta$ n= 0, 1, 2,… رتبة الطيف.

n = عدد الاطوال الموجية للشعاع وهي اعداد صحيحة.

$$\lambda = \frac{d \sin \theta}{n}$$

نستنتج من المعادلة اعلاه انه عند مرور أشعة متعددة اللون خلال المحزوز سوف تنتشر على جانبي المحزوز في كل جانب طيف يقابل الارقام الاولى من قيمة (n) ،الشكل (13-7) .



شكل (13-7)

المحزوز الحيودي

عبارة عن سطح مرآة محززة و هو اكثر دقة من النفاذي.

المحزوز المجسم

هو افضلهم اذ ان الكثافة الخطية لهذا المحزوز افضل من الكثافة الخطية للمحزوزين السابقين.

موحد اللون

يعتبر المنشـــور prism ، والمحزوز grating من أهم موحـدات الموجـات monochromators التي تستخدم للحصول على نطاقات ضيقة من طيف الأشعة فوق

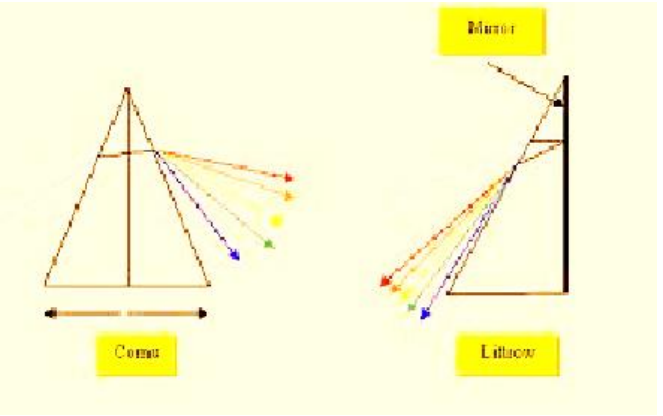
البنفسجية حيث يمكنها تمييز النطاق المستمر للطيف المختلط إلى حزم ضيقة narrow bands وبالاتي تزداد القدرة على التمييز resolution للأشعة الممتصة والمتقاربة في طول الموجة مما يزيد من حساسية الجهاز، وتختلف وحدة فصل الأطوال الموجية باختلاف تصميم الجهاز.

ويصنع باشكال مختلفة منها:-

1. وضع littrow- في هذا الوضع نستخدم موشور قائم الزاوية بدل موشور ذو 60^0 احد اوجه هذا الموشور بشكل مرآة عاكسة، فتحات الدخول والخروج يكونان في جهة واحدة ويعمل هذا الموشور: آ- مفرق للأشعة، ب- يعمل بشكل عاكس للأشعة.

2. وضع Elbent- تكون فتحة الدخول والخروج على جانب واحد، يدخل الضوء ويصطدم بمرآة ضوئية فتعكسه على محزوز فتفرق الأشعة وتسقط على الجانب الاخر من المرآة ثم تخرج من فتحة الخروج.

3. وضع Gery – turner وهنا يوجد تشابه مع وضع Elbent لكن الفرق هو وضع مرآتين صغيرتين.



شكل (7-14) وضع littrow

ويمتاز كل من المنشور ومحزوز الحيود المستخدم في مطياف الأشعة فوق البنفسجية عن المرشحات الضوئية المستخدمة في مطياف الأشعة المرئية بما يلي:

1- درجة الفصل تكون على درجة أعلى وتكون الحزم المفصولة في مدى ضيق جداً تتراوح بين 0.1-35mμ في حالة المنشورات والمحززات، بينما تكون في حالة المرشحات 0.2- 50 mμ.

2- يمكن توجيه الحزم المفصولة الواحدة بعد الأخرى على العينة وبصورة مستمرة عن طريق تغيير الوضع الهندسي للمنشور، وبذلك يمكن عمل scanning للامتصاص على أطوال موجات مختلفة.

ولذلك بدأت تحل موحدات الموجات محل المرشحات في أجهزة قياس الطيف المرئي، وبذلك نجد أن موحد الموجات لها قدرة عالية على تمييز الاشعاع المختلط polychromatic radiation إلى أطوال موجات منفردة في حزم مستدقة.

وتتكون موحدات الموجات monochromators مما يلي:

1. فتحة لدخول الضوء الساقط المختلط entrance slit
2. وسيلة لتجميع الضوء كعدسة أو مرآة collecting device, lens or mirror
3. وسيلة تفريد للضوء مثل منشور أو محزز dispersion device، prism or grating حيث تفرق أو تحلل الضوء إلى أطوال موجات منفردة.
4. عدسة أو مرآة للضبط focusing lens or mirror
5. فتحة لخروج الضوء exit slit، اذ يخرج الضوء بأطوال موجات منفردة وحزم ضيقة وتجمع كل هذه المكونات في صندوق عازل للضوء.

ويجب أن تكون جميع مكونات موحدات الموجات شفافة UV or VL transparent أي لا تمتص هي نفسها أي جزء من الضوء في مدى أطوال الموجات تحت الدراسة.

ويتوقف عرض الحزمة الضوئية المنبعثة من موحدات الموجات على عدد من العوامل منها:

1. وسيلة التفريد أو التفريق المستخدمة prism or gratting.
2. فتحة الدخول والخروج اذ تسمح الفتحة الضيقة بتحديد الحزمة الضوئية ولكنها تقلل من شدتها.

<u>منحنيات التشتت للاطياف</u>

يمثل منحني التشتت بالمعادلة (dλ\dx) اذ ان λ= الشعاع المتفرق x = المسافة عن البعد البؤري.

ويمكن رسم منحني التشتت بين النسبة (dλ\dx) مقدرة (nm\μm) ضد الطول الموجي مقداره μm.

ويمكن حساب عرض الشق slit band width من المعادلة الاتي:

$$\text{slit band width} = \frac{2f\lambda}{d}$$

F= البعد البؤري للعدسة أو المرآة، λ= الطول الموجي ولاجل الحصول على عرض شق مثالي يمكن استخدام المعادلة الاتية:

$$dopt = \frac{2f\lambda}{\omega}$$

ω = قطر المرآة أو العدسة المستخدمة في موحد اللون

- **الحيز الطيفي** Resolution of spectra

$$\text{الحيز الطيفي} = \frac{\lambda}{\Delta\lambda}$$

اذ ان λ = معدل طولين موجيين متجاورين و$\Delta\lambda$ الفرق بينهم ويرمز له (R) وكلما كان اطول يكون اقل قابلية على التفريق.

- **مجاز الحزمة Band pass**

كلما كان Band pass صغير كلما حصلنا على طيف نقي صالح للتحليل وخالي من التداخلات الطيفية الاخرى.

ملاحظة: يكون spectrophtometer اكثر دقة من filter photometer ويكون اغلى منه.

اسئلة الفصل السابع

1- صف مصادر الأشعة الخطية والمستمرة في التحليل الطيفي مع ذكر الامثلة.

2- تكلم مع الرسم عن مصباح الكاثود المجوف HCL؟

3- عندما تكون w=2 cm و$f=40cm\lambda = 500nm,$ اوجد عرض الشق الامثل d_{opt} لشقي دخول وخروج موحد اللون.

4- يستعمل موحد اللون في كل قياسات الطيف الامتصاصي علل ذلك.

5- ميز بين:

ا- السبكتروفوتوميتر والكلوروميتر

ب- ليزر الباقوت وليزر الصبغة

6- في اي منطقة من الاشعاع الكهرومغناطيسي تقع الاطوال الموجية الاتية؟

1 سنتيمتر، 0.8 مايكروميتر، 10 مايكروميتر، 100 نانوميتر، 10 نانوميتر علما ان واحد مايكروميتر يساوي $10^{-6}m$.

7- محززة الارسال لراسم الطيف له 6000 خط لكل سنتيمتر. احسب الاطوال الموجية

التي تنحرف بزاوية θ= 25° للرتبتين الاولى والثانية. في اي زاوية تظهر أشعة ذات طول موجي 2537 A° في كلا المرتبتين.

7- محززة الارسال لراسم الطيف له 6000 خط لكل سنتيمتر. احسب الاطوال الموجية التي تنحرف بزاوية θ= 25° للرتبتين الاولى والثانية. في اي زاوية تظهر أشعة ذات طول موجي 2537 A° في كلا المرتبتين.

الفصل الثامن
مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية
Ultraviolet and Visible Absorption Spectroscopy

الامتصاص بالأشعة ما فوق البنفسجية والمرئية

بصورة عامة تمتص الذرات والايونات التي تحتوي على مدار خارجي غير مشبع الكترونيا مغطى باخر مشبع الكترونيا، الأشعة ما فوق البنفسجية UV والمرئية VIS الساقطة عليها وبذلك يمكن الكشف والتعيين الكمي باستخدام هذه الأشعة الممتصة. الامتصاص في المرئية يترك الطيف الازرق.

تستعمل هذه الظاهرة للتحليل اذ ان Cu^{+2} عديم اللون وعند اضافة الماء $(Cu(H_2O)_4)$ يصبح لونة ازرق بما ان جزيئة الماء حاوية على ذرة اوكسجين وهي بدورها حاوية على ازواج الكترونية حرة فتنتج عملية ايهاب للالكترونات من المدار الخارجي للماء إلى المدار الخارجي للنحاس فيحدث توسع للمدار الخارجي لـ Cu^{+2} ونتيجة هذا التوسع يزداد الامتصاص فيمتص اللون الاصفر فيظهر اللون الازرق غير الممتص.

عند تغير الليكاند $[Cu^{+2}(NH_3)_4]^{+2}$ يصبح ذو لون ازرق غامق، اذ يحدث ايهاب الازواج الالكترونية من NH_3 إلى المدار الخارجي لايون Cu^{+2} وبذلك يحدث امتصاص اللون الاصفر ويخرج اللون الازرق. ومن هنا نستنتج تغير الالوان للمركبات وذلك من خلال تغير الليكاند وسوف يكون الناتج صالح للتحليل اللوني الكمي والنوعي لذلك الايون أو الجزيئة، وحتى اذا كانت المادة غير ملونة ممكن تحويلها إلى مادة ملونة مثل:

$$Fe^{+2} + HNO_3 \rightarrow Fe^{+3}$$
$$Fe^{+3} + CNS^- \rightarrow [Fe(CNS)_6]^{-3}$$

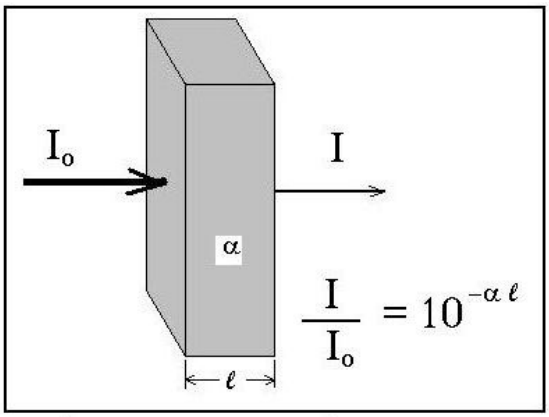
احمر وردي يصلح للتحليل الطيفي لانه ذو شدة عالية. يمكن استخدام الليكاند العضوي أو غير العضوي لتكوين معقد يمكن قياسه مثل:

معقد ذو لون بنفسجي ← داي فنيل كاربزون + Hg^{+2} عديم اللون

النظرية الرياضية للامتصاص الطيفي Lambert – Beer's Law

في البصريات، قانون بير لامبرت (Beer–Lambert law) أو قانون بير، أو قانون بير–لامبرت– بوغير، هو علاقة تجريبية تربط امتصاص الضوء بخصائص المادة التي يعبر الضوء من خلالها.

تم اكتشاف القانون من قبل الفرنسي بيير بوغير قبل 1729. وغالبا ما يسند القانون إلى جوان لامبرت، الذي استشهد بـ"تجربة بوغير الضوئية عن توهين الضوء" في كتابة "Photometria" في عام 1760. لاحقا قام أوغست بير بتوسيع قانون الامتصاص الأسي في عام 1852 ليتضمن تركيز المحاليل في "معامل الامتصاص".



شكل (8-1) قانون لامبرت - بير

ينص القانون على وجود ارتباط لوغاريتمي بين نفاذية الضوء T خلال المادة وحاصل ضرب معامل امتصاص المادة، α، والمسافة التي يقطعها الضوء خلال المادة ℓ. ويمكن لمعامل الامتصاص بدورة أن يكون حاصل ضرب إما الامتصاصية المولية ε، وتركيز c للمواد الماصة في المادة، أو مساحة المقطع العرضي للامتصاص، σ، وكثافة عدد N جزيئات المادة الماصة.

اذ ان: I_o و I هي شدة قدرة الضوء الساقط قبل وبعد عبوره للمادة، بالترتيب.

يعبر عن النفاذية (transmission or transmissivity) بمصطلح الامتصاصية (absorbance) والذي يعرف بالنسبة للسوائل بالشكل الاتي:

$$A \equiv \log_{10}\left(\frac{I_0}{I_1}\right) = \alpha l c$$

هذا يعني أن الامتصاصية تصبح بعلاقة خطية مع التركيز (أو رقم الكثافة للمواد الماصة) بحسب العلاقة انفاً.

وهكذا إذا عرفت المسافة المقطوعة والامتصاصية المولية أو مساحة مقطع الامتصاص وقيست الامتصاصية، يمكن استنتاج تركيز المادة (أو رقم كثافة المواد الماصة).

ان قانون لامبرت نص على أن الامتصاص يتناسب مع طول المسلك الضوئي، بينما نص قانون بير على أن الامتصاص يتناسب مع تركيز الجزيئات الماصة في المادة إذا تم التعبير عن التركيز كجزء مولي، أي بدون واحدة، فتأخذ عندها الامتصاصية المولية ε نفس واحدة معامل الامتصاص، أي مقلوب الطول cm^{-1} وعلى أية حال، إذا تم التعبير عن التركيز بالمول في واحدة الحجم، تستخدم من أجل الامتصاصية المولية ε واحدة $L.mol^{-1}.cm^{-1}$، وأحياناً تحول الواحدة إلى $mol^{-1}.cm^{2}$.

- الاشتقاق

إذا تعرضت الأجسام المادية للإشعاع يتم امتصاص جزء من الإشعاع الساقط ويتناثر جزء منه وينتقل الجزء الاخر منه. ونتيجة للامتصاص تقل شدة الضوء الذي يمر عبر الأجسام المادية أي شدة الضوء المنقول. ويعتمد جزء الضوء الساقط الممتص على سمك وسيط الامتصاص. واشتق لامبرت علاقة كمية بين الانخفاض في شدة الضوء أحادي اللون بسبب المرور عبر وسط متجانس بسمك l وشدة الضوء I_0 ليُعرف هذا ويسمى هذا القانون باسم قانون لامبرت. لنفترض بأن نصف جزيئات بأن لها مساحة مقطع الامتصاص (مساحة)، σ، معامدة لطريق الضوء المسلوك خلال محلول ما، عندها يتم امتصاص فوتون من الضوء إذا اصطدم بإحدى الجزيئات، أو ينفذ إذا لم يصطدم dz. نعرف z كمحور موازي لاتجاه تحرك فوتونات الضوء، و A المساحة، و dz سمكة (على طول المحور z) الشريحة ثلاثية الأبعاد من مسلك الضوء. نفترض أن dz صغيرة جداً بحيث لا يحجب أي جسيم جسيماً آخر عند النظر باتجاه المحور ممثلة z ويكون تركيز من الجسيمات في الشريحة.

إن جزء الفوتونات الممتصة أثناء عبورها من هذه الشريحة يكون مساوياً لمساحة المتاحة الكلية للجسيمات في الشريحة σAN dz، مقسومة على مساحة الشريحة A، فينتج σN dz إذا كتبنا عدد الفوتونات الممتصة في الشريحة dI_z، والعدد الكلي للفوتونات الساقطة على الشريحة I_z، تعطى عندها كمية الفوتونات الممتصة في الشريحة بالصيغة:

$$A \equiv \log_{10}\left(\frac{I_0}{I_1}\right) = \alpha l c$$

يمكن الحصول على حل هذه المعادلة التفاضلية البسيطة بمكاملة الطرفين للحصول على I_z كتابع لـ z:

$$A \equiv \log_{10}\left(\frac{I_0}{I_1}\right) = \alpha l c$$

اختلاف الشدة في الشريحة من أجل السماكة الحقيقية ℓ هو I_0 عند $z = 0$، وI_1 عند $z = \ell$ باستخدام المعادلة السابقة، يكتب الفرق في الشدة كما يلي:

$$A \equiv \log_{10}\left(\frac{I_0}{I_1}\right) = \alpha l c$$

بإعادة ترتيب المعادلة تصبح بالشكل:

$$A \equiv \log_{10}\left(\frac{I_0}{I_1}\right) = \alpha l c$$

من الضروري اعتبار الاخطاء في الافتراض الموجود في هذا الاشتقاق، وخصوصاً بأن كل جسيم ماص يتصرف بشكل منفصل مع الضوء. يحدث الخطأ عندما توضع الجسيمات على طول المسلك الضوئي بحيث تصبح الجسيمات مختبئة ومحجوبة بالجسيمات الأخرى. يقترب الافتراض من الصحة فقط في بعض المحاليل الممددة، ويصبح غير دقيق مع زيادة تركيز المحاليل، أو بزيادة طول المسلك الضوئي.

ومن الناحية العملية، فإن دقة الافتراض هو أفضل من دقة معظم القياسات المطيافية حتى قيمة امتصاصية مساوية لـ1. أو (I_1/I_0=0.1) وبتقريب جيد، فقياسات الامتصاصية في هذا المجال تكون على علاقة خطية مع تركيز المواد الماصة في المحلول. عند قيم كبيرة للامتصاصية، ستقل قيمة التركيز المقدرة بسبب تأثير حجب الجزيئات مالم يتم تطبيق عرقة غير خطية بين الامتصاصية والتركيز.

وبصورة عامة يمكن كتابة قانون لامبرت بير بالشكل الاتي:

A= abc

اذ ان A = الامتصاصية (Absorption)

a = معامل الامتصاص Absorptitity Coefficient (l. g^{-1}. cm^{-1})

C = تركيز المذاب concentration of solute (g\l)

وكما اشرنا سابقا اذ ان N = No. of solute particles

$dp \approx pdN$

$$\frac{dp}{p} = kdN$$

$$\frac{dp}{p} = -kdN$$

$$\int_{p_0}^{p} \frac{dp}{p} = -k\int_{0}^{Nt} dN$$

$$log\frac{p_0}{p} = -\frac{k}{2.303}N$$
$$A = -log\frac{p_0}{p} = aN = abc$$

اذ ان:

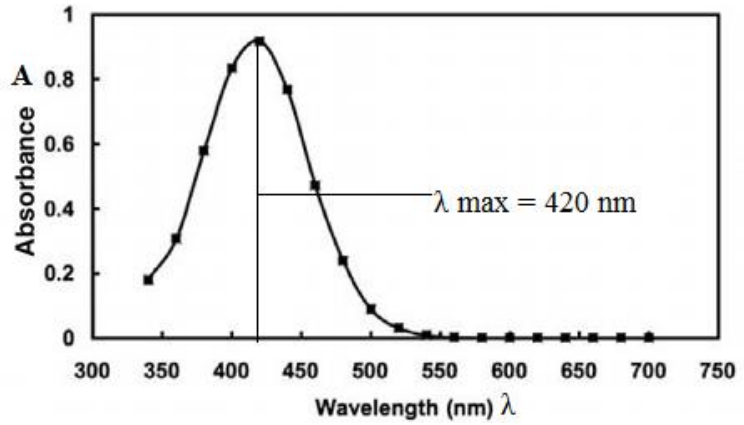
dp = سمك الخلية الواحدة

dN = عدد الجزيئات في dp

الشدة التي امتصت في dp= db

تتناسب N = cb حيث كلما ازداد N (عدد الجزيئات) يزداد التركيز، وP_0 تمثل I_0 وكذلك P تمثل I.

لايجاد (λmax) إلى اعلى طاقة يمتصها المحلول نرسم علاقة بين λ و A فان اعلى قمة (λmax) فلو اخذنا طيف O- nitrophenolate تساوي بحدود 420 nm.



شكل (8–2) الطول مقابل الامتصاصية لايجاد الطول الموجي الاقصى

<u>شروط قانون بير</u>

يوجد على الأقل خمسة شروط يجب توفيرها لنتمكن من تطبيق قانون بير، وهي:

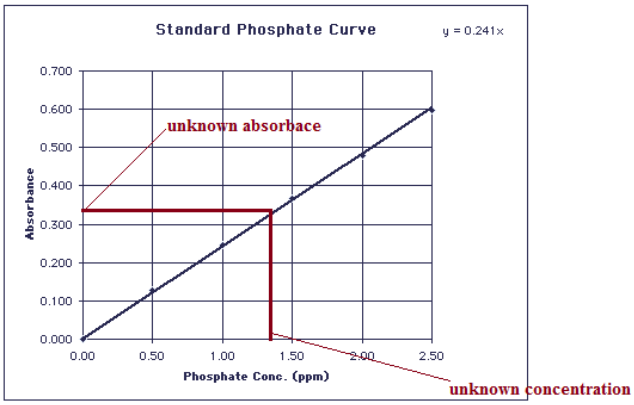
1. يجب على المواد الماصة في المحلول أن تكون منفصلة عن بعضها.
2. يجب أن يكون وسط الامتصاص موزعا بتجانس في الحجم الكلي ويجب أن لا تبعثر الإشعاع.
3. يجب على الإشعاع الساقط أن يتألف من أشعة متوازية، كل منها تقطع نفس المسافة في الوسط الماص.

4. يجب على الضوء الساقط أن يكون أحادي اللون، أو أن يكون على الأقل ذو عرض أضيق من الوسط الماص.

5. يجب على التدفق الساقط أن لا يؤثر على الذرات أو الجزيئات، يجب أن يكون فقط لسبر الجسيمات المدروسة. وبشكل خاص، يجب على الضوء المستخدم أن لا يسبب أو إشباع ضوئي (optical saturation) أو ضخ ضوئي (optical pumping)، لأن هذا سيستنزف الإشعاع وقد يرفع من الإصدار المحفز.

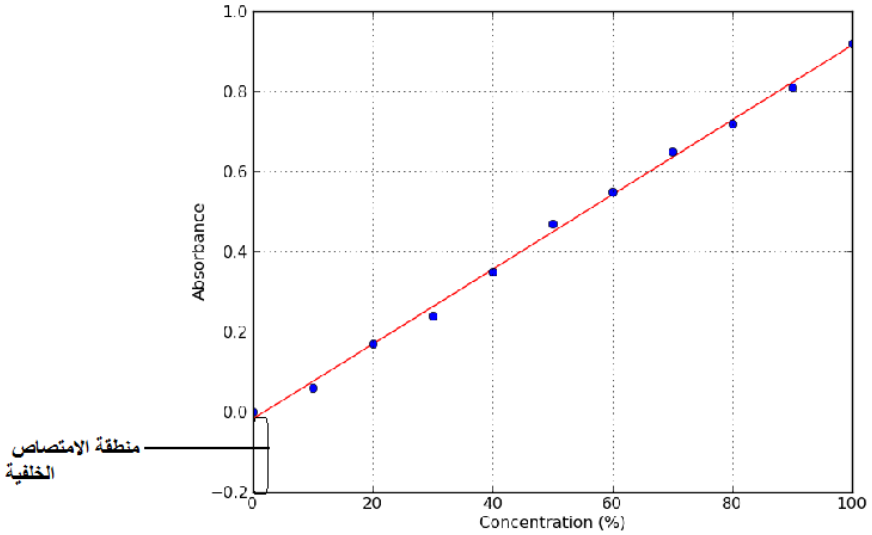
إذا أخل بأي من هذه الشروط، سيكون هناك انحراف عن قانون بير.

ولتعيين منحني المعايرة (calibration curve) نثبت λ_{max} عند قياس الامتصاصية لتراكيز مختلفة للمواد



شكل (8-3) منحني المعايرة القياسي لايجاد كمية تركيز مجهول (الفوسفات مثلا)

اذا لم يمر الخط بنقطة الصفر فنعمل على طرح الامتصاص الخلفية التي هي المنطقة بين الخط المستقيم والصفر.



شكل (8–4) منحني المعايرة الذي لم يمر بنقطة الاصل.

$P\backslash P_0$ = T Transmittance

$(p\backslash p_0)\ 10^2$ = Transmittance % = T%

$$A = -logT = log\frac{1}{T}$$

A = 2 –log T%

فائدة المعادلتين هو تحويل الامتصاصية إلى النفاذية وبالعكس.

ملاحظة: اذا اريد المقارنة الكمية لامتصاص مواد مختلفة ذات اوزان جزيئية معلومة فنستخدم الممتصية الجزيئية molar absorptivity ϵ ، اذ:

$$\epsilon = aM$$

a= الممتصية Absorptivity

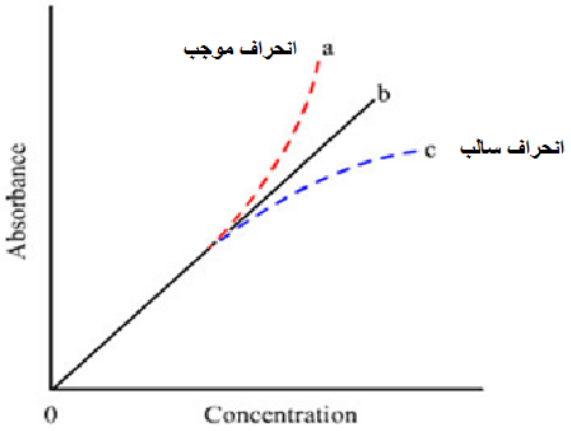
M = الوزن الجزيئي

A= abc

$$A = \epsilon\ b\ \frac{c}{M}$$

<u>الانحراف عن قانون بير</u>

اسباب الانحراف عن قانون بير:



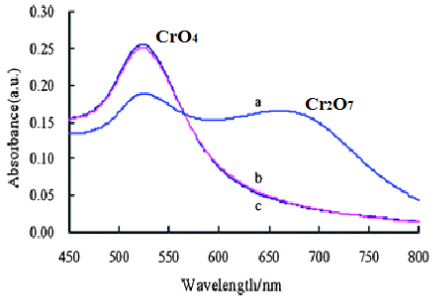
شكل (8-5) الانحراف عن قانون بير

1. تفاعل أو تأثير جزيئات المذاب مع بعضها مكونة بوليمرات اي ان كلما ازداد التركيز يزداد عدد البوليمرات و بذلك تقل الممتصية اي يحدث انحراف سالب عن قانون بير.
2. ينحرف عندما تتأين الجزيئات للمذاب.
3. تتفاعل جزيئات المذاب مع جزيئات المذيب مثل:

$$Cr_2O_7^{-2} + H_2O \leftrightarrow 2CrO_4^{-2} + 2H^+$$

Yellow sovent solute (orange)

كلما تخفف المحلول اكثر يسبب حيود عن قانون بير. عندما نجعل المحلول قاعدي يتحول جميع $Cr_2O_7^{-2}$ إلى CrO_4^{-2} اي نجعل المحلول حامضي لكي تبقى العلاقة خطية لقانون بير. فمن الممكن تمييز طيفين بين الكرومات والداي كرومات اذ ان الكرومات يعطي قمة واحدة والداي كرومات يعطي قمتين كما موضح في الشكل (8-6). لذلك نختار القمة التي تعطي خطية اكثر هي CrO_4^{-2}.



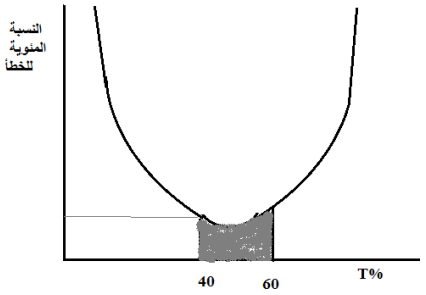
شكل (8-6)

4. من اسباب الانحراف هو استخدام شعاع أو طيف غير مونو كروماتي اي غير خطي نقي اي يحتوي على شوائب خطية في هذه الحالة يحدث انحناء إلى الاسفل (انحراف سالب) وسبب هذا الانحراف كون فتحة الخروج للطيف كبيرة نسبيا وكلما صغرت فتحة الخروج يكون الطيف الخارج هو اكثر مونوكروماتي نقي اكثر.

دقة القياسات الضوئية والطيفية

تدل الاحصاءات على ان افضل دقة يمكن الحصول عليها في التحليل الطيفي تتضمن تحليل تركيز محلول يعطي ممتصية A = 0.04343 أو نفوذية T=36. 8% للحصول على امتصاصية اعلى من هذه الامتصاصية نعمل على تخفيف المذاب اما للحصول على امتصاصية اقل فنعمل على تركيز المذاب بالتسخين (reconcetration).

افضل دقة نحصل عليها من محلول ذو تركيز يعطي نفوذية=36.8% وA=0.4343 هي المنطقة المخففة وذلك تستخدم المحاليل التي تعطي نفوذية % من 15% ← 65% .



شكل (8-7) منحني الدقة والضبط

الشكل الاسي لقانون بير

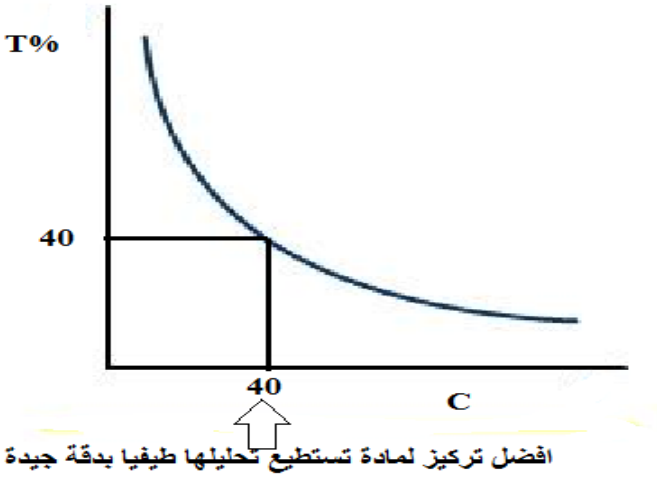
الشكل الخطي:

$$log\frac{P_0}{P} = A = Gb\frac{C}{M}$$

الشكل الهندسي لقانون بير:

$$T = \frac{P}{P_0} = 10^{-abc}$$

وتسمى Exponential equation.

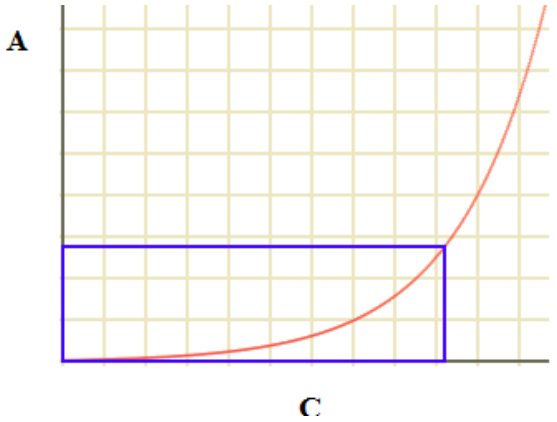


شكل (8-8) المنحني الاسي exponential curve

ملاحظة:

1- الشكل الاسي بين التركيز والدقة بينما الشكل الخطي بين التركيز فقط. ويعتبر المنحني الاسي افضل لكن للسهولة تستخدم احيانا المنحني الخطي اذ يبين إلى مدى ستكون العلاقة خطية.

2. لا يشترط ان يكون الخط مستقيم لكن قد يحتوي احيانا على شيء من الانحناء ولهذه الحالة نستطيع الاستفادة من العلاقة بين A وC لكن الدقة غير جيدة.



شكل (8-9) المنحني الاسي بين التركيز والامتصاصية

التداخلات التي تحدث في التحاليل بواسطة الأشعة المرئية والفوق بنفسجية وتحت الحمراء:-

بما أن هذه التقنيات في الغالب تعتمد مبدأ امتصاص الأشعة الضوئية فان معظم التداخلات لهذه التقنيات متماثلة مع وجود بعض الاختلافات تعتمد على المبدأ النظري لكل حالة، ويمكن إجمال بعض هذه التداخلات لتلافي الخطأ في نتائج التحاليل:-

1. تعتمد هذه التقنيات على حاويات النماذج (cells) أثناء التحليل ويجب أن تكون هذه الخلايا متماثلة في الحجم والتركيب الكيميائي
2. يجب أن تكون الخلايا نظيفة وخالية من الأضرار الميكانيكية، لتجنب الخطأ في الممتصية.
3. أن نتجنب الانحراف عن قانون بير (beer's law') للامتصاصية.
4. أن نعتمد الطول الموجي الأقصى للامتصاصية (λ_{max}).
5. في التحاليل التي نكون فيها معقدات ملونة يجب أن يكون التركيب الكيميائي للمعقد معلوم.
6. في بعض التحاليل تكون الدالة الحامضية مهمة جداً للحفاظ على البناء الكيميائي للمادة قيد التحليل، لذلك ينبغي المحافظة على pH خلال فترة التحليل.
7. العامل الزمني مهم جداً لإنجاز التحاليل ففي كثير من التجارب تحتاج فترة زمنية محددة لاكتمال التفاعل الكيميائي قبل استعمال الجهاز للقياس.
8. درجة الحرارة لها من الأهمية بمكان يستوجب العمل ضمنها لاكتمال التفاعل الكيميائي في الإطار الزمني المحدد للتجربة.
9. في عدد من التحاليل يستوجب الحال عدم تعريض النموذج المعد للقياس إلى الضوء المباشر ولذلك يجب وضعة في مكان مظلم أو استعمال أوعية معتمة.
10. إبعاد المصادر الحرارية عن الأجهزة المستخدمة في القياس وخصوصا أجهزة الأشعة تحت الحمراء لتجنب الإشعاعات الإضافية من هذه المصادر.
11. أما الكواشف الكيميائية فتعتمد عليها نتائج التحليل بشكل أساسي ولذلك يجب أن تكون نقية ومن مناشيء معروفة وضمن فترة الصلاحية ومعلومة التركيب الكيميائي ونسب الملوثات المسموح بها.
12. أن يكون النموذج المعد للتحليل والنموذج المقارن (Blank) بنفس الخصائص الفيزيائية كاللزوجة والتركيز وكمية المضافات.
13. في حالة وجود أكثر من مادة في النموذج تؤثر على التحليل للمادة المطلوبة فيجب العمل على تثبيت هذه المواد أو إزالتها لمنع التداخل.

14. العمل بتركيز مخففة قدر الأمكان لتجنب الانحراف عن قانون لامبرت بير.
15. المحافظة على العدد التاكسدي للعنصر المطلوب في حالة وجود أكثر من حالة تأكسد وذلك للمحافظة على البنية التركيبية للعنصر تحت التحليل.

الاجهزة المستخدمة في القياسات الطيفية

- جهاز التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية وفوق البنفسجية:

يسلك الضوء المرئي سلوك الضوء فوق البنفسجي في كثير من مظاهرة اذ ان كلاهما ينتج عن إمتصاصة إثارة إلكترونية في الجزيئات. كما أن أغلب الأجهزة التي تستخدم في طرائق التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية هي نفسها التي تستخدم في طرائق التحليل الطيفي في مجال الأشعة فوق البنفسجية. لذا فقد جرت العادة على دراستهما معاً. ويغطي هذان الطيفان المجال من 200 إلى 800 نانو ميتر (ميلي ميكرون).

- مطيافية فوق البنفسجية والمرئية UV and Visible Spectroscopy:

المطيافية الإلكترونية هي أحد أنواع الدراسات الطيفية والتي تعتمد على إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية أو المرئية، ولقد سميت بهذا الإسم لأن إمتصاص الأشعة في هاتين المنطقتين يؤدي إلى إثارة الإلكترونات في الجزيء الذي يمتص تلك الأشعة.

ويمكن تقسيم الاجهزة المستعملة في هاتين المنطقتين إلى نوعين من الاجهزة تبعا لمحتواها من معدات اخراج الطول الموجي المناسب للأشعة الكهرومغناطيسية:-

1. Spectrophotometer
2. Filterphotometer

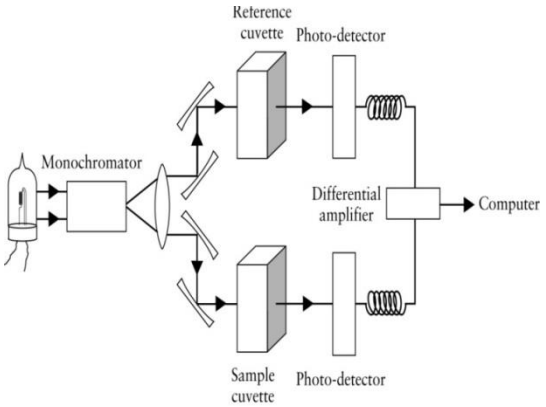
وتقسم الـ spectrophotometer إلى نوعين من الاجهزة:

1. احادية الحزمة الضوئية Single beam
2. ثنائية الحزمة الضوئية Double beam

و كلا النوعين من اجهزة الـ spectrophotometer يتكون من الاجزاء الاتية:-

1. مصباح lamp
2. موحد اللون monochromator
3. خلية زجاجية glass cell
4. خلية ضوئية photoelectric cell
5. مكبر الاشارة الكهربائية Amplifier
6. المسجل

اما الاجهزة التي تحتوي على مرشحات ضوئية فقد تم استبدال موحد اللون بمرشح ضوئي. والاجهزة ثنائية الحزمة اذ تقسم الشعاع الضوئي الخارج من فتحة موحد اللون إلى شعاعين متساويين في الشدة ويتم التقسيم لهذا الطيف بامرارة بمرآة نصف شفافة تسمح للنصف الاول بالسقوط على خلية العينة وتسمح النصف الثاني بالسقوط على محلول بلانك (محلول خلب) والفرق بين اجهزة احادية الحزمة وثنائية الحزمة بالدقة والحساسية اذ ان ثنائي الحزمة اكثر دقة وحساسية ولذلك يكون سعرة اكثر.



شكل (8-10) مخطط جهاز الطيف ثنائي الحزمة Double beam

مصادر الاطياف الضوئية source of radiation

يستخدم هنا نوعين من مصادر الاشعاع في نفس الجهاز اذ يحتوي الجهاز على لمبة تنجستن كمصدر للأشعة المرئية ومصباح ديوتيريوم كمصدر للأشعة فوق البنفسجية ويتم استعمال كل لمبة على حدة عندما نحتاج اليها.

لمبات الديوتيريوم: تحتوي على زوج من الأقطاب electrodes في أنبوبة من الزجاج لها شباك من الكوارتز Quarters window والأنابيب تملأ إما بغاز الهيدروجين أو الديوتيريوم عند ضغط منخفض. وعند توصيل هذه المصابيح بتيار كهربائي ذو فولت تخرج الالكترونات من الالكترود إلى جزيئات الغاز حيث يحدث لها إثارة إلى مستويات عالية من الطاقة. وعندما تعود هذه الالكترونات إلى حالتها من مستويات الطاقة المنخفضة، ينبعث أشعة في المنطقة التي ينحصر طول موجاتها بين 350 -200 وهي المنطقة فوق البنفسجية لطيف الضوء.

ويتكون مصدر الاشعاع من مواد قابلة للاثارة إلى الطاقة العالية بواسطة شحنة كهربائية أو مسخن كهربائي وقد يكون للمادة عديد من مستويات الطاقة المتقاربة مما يتسبب قي تقارب أطوال الموجات المشعة معطية طيف مستمر في نطاق عريض. ويتميز مصدر

الاشعاع المثالي لقياسات الامتصاص بقدرته على بث طيف مستمر قوي ومتجانس في مدى المجال المستخدم (يحتوي على جميع الأطوال الموجية في المدى المستخدم في التقدير). ويزود الجهاز بمثبت للتيار الكهربائي stabilizer لأن أي تغير يحدث في قوة الكهرباء التي تعطي الطاقة لمصدر الاشعاع يصاحبها انسحاب shift لمنحنى "الشدة intensity– طول الموجة wavelength "

المصباح المتوهج ذو سلك التنكستن Iodidequarty tungsten filament lamp وهو مصدر ضوئي ممتاز لاجهزة الطيف خلال المنطقة المرئية والاجزاء المجاورة للفوق بنفسجية وتحت الحمراء تقريبا من 320nm إلى 3.5µm ويمكن اطالة عمره بدرجة حرارة عالية وذلك بتضمينة ضغطاً صغير من بخار اليود وهذا مصباح التنكستن – يود أو الكواتز– يود، وهذا يدعى هكذا لانه مجهز بغطاء من السليكون ليسمح له العمل في درجات حرارة عالية.

$$W + 2I_2 \leftrightarrow WI_4$$

وتنحل WI_4 حيثما تلامس السلك المتوهج فتعيد ترسيب ذرات التنكستن على السلك المتوهج ولا تدعها تتجمع على الجدران الاكثر برودة من المصباح.

ومن المعروف أن ثبات شدة التيار مهمة جداً ومطلوبة خاصة عند استخدام الأجهزة وحيدة الشعاع single beam instruments وذلك لتجنب الخطأ في القياسات اذ ان قوة الشعاع الساقط ان اختلفت بين وقت ضبط الجهاز ووقت القياس لشدة الشعاع النافذ من العينة مما يسبب خطأ في النفاذية التي تم قياسها، أما في حالة الأجهزة ثنائية الاشعاع Double beam instruments فهي مصممة لعمل مقارنة بين الضوء الساقط على العينة والضوء النافذ منها ولذلك في هذا النوع من الأجهزة فان الثبات العالي لمصدر الاشعاع ليس مهم جدا اذ ان المقارنة بين الشعاع الساقط والنافذ تحدث بصورة تلقائية.

<u>موحدات أطوال الموجات Monochromators</u>

في أجهزة مطياف الضوء المرئي/ فوق البنفسجي يستخدم المنشور prism أو محزوز الحيود Diffraction grating في عملية فصل الأطوال الموجية.

وبدأت تحل موحدات الموجات محل المرشحات، وبذلك نجد أن موحد الموجات يميز الاشعاع المختلط polychromatic radiation إلى أطوال موجات منفردة في حزم مستدقة. ويجب أن تكون جميع مكونات موحدات الموجات شفافة transparent في نطاق الأشعة المرئية وكذلك في نطاق الأشعة فوق البنفسجية أي تنفذ كل الأطوال الموجية تحت

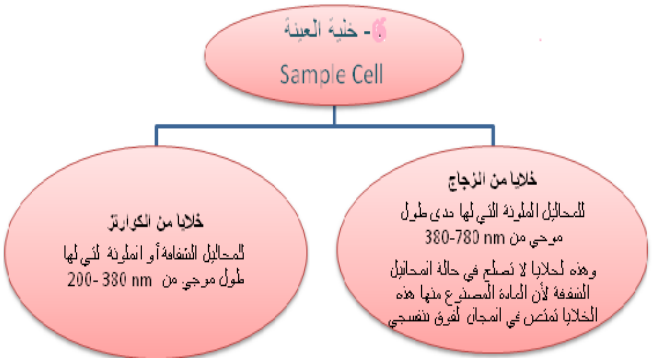
الدراسة بدون حدوث أي امتصاص أو انعكاس أو تشتت أو أي تدهور في طاقة هذه الأشعة. وعادة ما تستخدم محززات الحيود العاكسة reflection diffraction gratings في نطاق أجهزة مطياف الضوء المرئي/ فوق البنفسجي.

وتتميز المحززات العاكسة بعلاقتها الخطية بزاوية الانتشار والثبات بين المساران المعكوسان في المدى 200– 800 nm في نطاق الأشعة الفوق بنفسجية والمرئية وعلى ذلك فالمحززات أفضل من المنشورات اذ يمكنها اعطاء حزم متساوية عند استخدام فتحة ثابتة في نطاق الطيف المستهدف بخلاف المنشور اذ يختلف عرض الحزمة الضوئية باختلاف النطاق المستخدم من الاشعاع.

خلايا العينات Sample containers

قد تكون العينات المختبرة بالأشعة فوق البنفسجية أو المرئية عينات سائلة أو غازية، وتوضع العينات في خلايا مصنوعة من الكوارتز أو fused silica بينما يمكن استخدام الزجاج العادي في نطاق الأشعة المرئية.

وتكون سمك خلية القياس في خلايا الغازات من 0.1- 10 mm بينما تكون في حالة المحاليل بين 1- 10 cm وقد تستخدم خلايا دقيقة يطلق عليها micro cells في وجود مكثف شعاع يسمى beam condenser لكي نتمكن من فحص العينات الصغيرة الحجم.



ويجب الحفاظ على نوافذ الخلايا نظيفة تماما من بصمات الأصابع والخدوش وآثار العينات السابقة وذلك لتفادي أي خطأ في القياس ويمكن تنظيف خلايا الكوارتز بشطفها بالماء أو الصابون مع الماء أو بحمض النتريك المركز . ومكان وضع العينة يكون بعد موحد الموجات monochromator في جهاز الـ UV- VL spectrophotometer. .

شكل (8-11) نماذج من الخلايا المستخدمة في الاجهزة الطيفية

المكشاف Detectors

مكشاف ضوئي أو مجس ضوئي Photosensors أو photodetectors هو مكشاف حساس للضوء أو الإشعاع الكهرومغناطيسي. تستعمل المجسات الضوئية في القياسات الضوئية المختلفة. وهو اداة لقياس كمية الضوء الخارج من خلية العينة ويقوم بتوضيح ما إذا كانت كمية الضوء الخارج من خلية العينة مساوي لكمية الضوء الداخل للعينة فإذا حدث ذلك وكانت كمية الضوء الداخل للعينة مساوي لكمية الضوء الخارج من العينة انه لم يحدث إمتصاص وبالاتي لا نحصل إلا على خط مستقيم ليس به أي إمتصاص. أما أذا حدث العكس وكان الضوء الخارج من خلية العينة أقل من الضوء الداخل للعينة نستدل من ذلك حدوث إمتصاص. يمتص الكشاف طاقة الفوتونات الساقطة عليه ويحولها إلى قياسات كمية، ومعظم الكشافات الحديثة تولد اشارات أليكترونية يمكن تسجيلها بمقياس أو مسجل معين، ويتميز الكشاف الجيد بالآتي:

1- أن يكون له حساسية عالية مع انخفاض الضوضاء background noise حتى يمكنة كشف الأشعة الضعيفة أيضا.

2- أن يكون له مدى قصير للاستجابة.

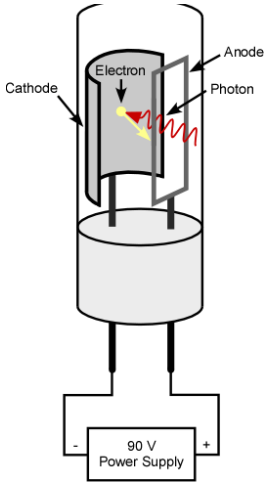
3- الثبات على مدى واسع لضمان العلاقة الكمية بين قوة الاشارة وقوة الاشعاع الساقط عليه.

4- يعطي اشارة أليكترونية يسهل تكبيرها وقراءتها.

والكشافات المستخدمة في مطياف الأشعة المرئيه فوق البنفسجية هي الكشافات الكهروضوئية وهي تستخدم مع جميع أجهزة Spectrophotometers التي تستخدم المنشور أو المحزوز في فصل الأشعة والحصول على طول موجي محدد.

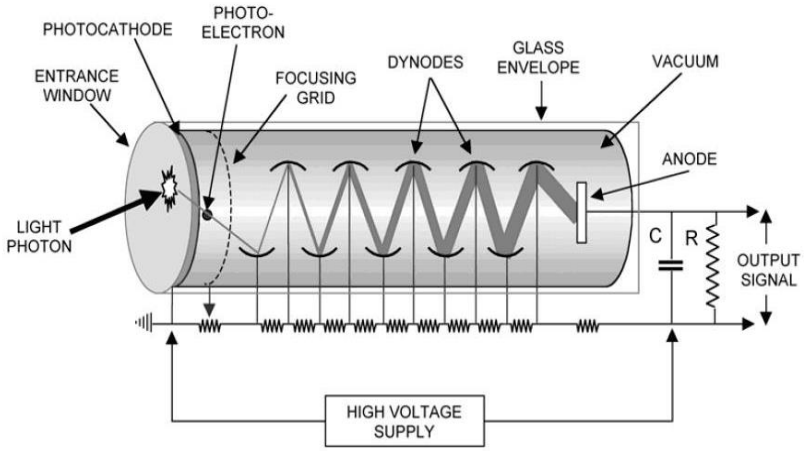
- انواع الكشافات:

1. الخلية الضوئية، وفيها الكاثود يتكون من طبقة رقيقة شبة موصلة محتوية على مادة موصلة $Na_2KSb, K_2CsSb, CS_2, Sb$ مع كمية ضئيلة من Cs. الالكترونات المتحررة من الكاثود تولد تيار كهربائي يتناسب مع شدة الضوء.



شكل(8-12) الخلية الضوئية

2. مكشاف الانبوب المضاعف الضوئي الالكترونيphotomultiplier tube detector كل الكترون يصطدم على داينود يسبب قذفا ربما لاربعة الكترونات والتي توجد على الداينود – وهكذا فاذا وجد 12 داينود فالمضاعفة الالكترونية 4^{12} تقريبا 17×10^{6} سبعة عشر مليون الكترون الناتجة من الكترون ضوئي منفرد تكون ومضة والتي تدوم عادة 5ns تقريبا، والتيار الناتج i= 1 ma .



شكل (8-13) المكشاف الانبوبي المضاعف الضوئي الالكتروني

وحدة التسجيل Recorder (meter)

هناك طريقتان لعرض النتائج الخاصة بالامتصاص:

1- في حالة التقديرات الكمية والتي يستخدم فيها طول موجي واحد فان الامتصاص أو النفاذية تظهر على شاشة رقمية Digital.

2- أما في أجهزة المطياف التي يقاس فيها الامتصاص كدالة في الطول الموجي فتعرض النتائج في صورة رسم بياني spectrograph.

ويوجد العديد من طرز أجهزة مطياف الأشعة المرئية – فوق البنفسجية وهذه الطرز تختلف عن بعضها في التصميم ولكنها تشترك في الوحدات الأساسية.

ويوجد تصميمان من المطياف مزدوج الحزمة وهما:

مطياف الحزمة المزدوجة في الوقت Double beam in time arrangement

وهنا بعد خروج الأشعة من وحدة فصل الأشعة فانها تتناوب بين العينة والبلانك بتردد ثابت وعلى ذلك فان هاتين الحزمتين المتناوبتين تسقطان على خلية ضوئية واحدة.

مطياف الحزمة المزدوجة في الفراغ Double beam in space

وهنا يوجد مساران ضوئيان منفصلين ينتجان من أشعة المصدر بواسطة مجزيء وعدة مرايا تسقط احداهما على العينة والأخرى على البلانك وتسقط بعد ذلك كل حزمة على خلية ضوئية مستقلة ويجري تقدير الامتصاص بمقارنة نسبة كثافة الأشعة الساقطة على الخليتين.

تعريفات هامة خاصة بطيف الأشعة المرئية والفوق بنفسجية:

الكرموفور (Chromophor).

هو أي مجموعة لها القدرة على امتصاص الشعاع الكهرومغناطيسي بصرف النظر عن اللون مثل الرابطة الثنائية (C=O).

الأكسوكروم auxochrome.

هو أي مجموعة مشبعة لا تمتص في مجال الأشعة فوق البنفسجية ولكن عند تبادلها مع الكرموفور تتغير طول الموجة التي يحدث عندها الأمتصاص كما تتغير شدة الأمتصاص مثل (OH,- Cl).

الأنتقال الأحمر (Red shift). هو ازاحة الأمتصاص نحو أطوال موجات أكبر.

الأنتقال الأزرق (Blue shift). هو ازاحة الأمتصاص نحو أطوال موجات أصغر.

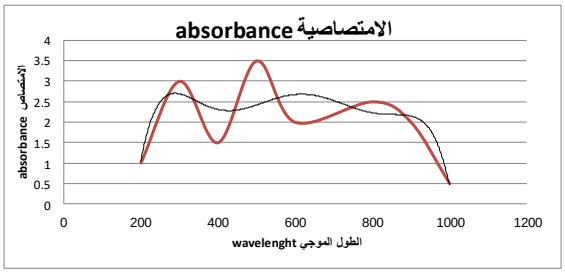
الأنتقال لزيادة اللون (Hyper chromic shift). هو زيادة شدة الأمتصاص.

الأنتقال لنقصان اللون (Hypo chromic shift). هو نقصان شدة الأمتصاص.

الحد الأقصى للأمتصاص Maximum absorpation. هو الطول الموجي الذي يحدث عندة أقوى امتصاص.

تطبيقات الامتصاص الطيفي:

طيف الامتصاص absorption spectrum: وهو الجزء من الطيف الالكترومغناطيسي الذي تمتص عندة المادة الأشعة كما في الشكل (8– 14).



شكل (8–14): يوضح العلاقة بين الامتصاص والطول الموجي لمركبات مختلفة.

ويهمنا من هذا المنحنى معرفة طول الموجة التي تكون عندها شدة الامتصاص أكبر ما يمكن ويرمز لها بالرمز λ_{max} وكذلك معامل الامتصاص الجزيئي ε عند هذه الموجة. وترتبط شدة الامتصاص (A) بتركيز المحلول (C) وطول الخلية (L) بالمعادلة الاتية:

$$A = \varepsilon cL$$

وتعرف هذه المعادلة باسم قانون لامبرت– بير (Beer- Lambert's Law) وهو من أهم القوانين المستخدمة في التحليل الطيفي ومنها يتضح أن شدة الامتصاص للمركب (أو امتصاصية المركب) تتناسب تناسباً طردياً مع كل من التركيز المولي (C) وطول الخلية (L)

معامل الامتصاص الجزيئي molar absorptivity لمركب ما يساوي شدة الامتصاص لمحلول المركب الذي تركيزة 1 مول/ لتر وموضوع في خلية طولها 1 سم. وهو مميز لكل مادة عند طول موجة معينة وفي الغالب λ_{max} ووحدته: $L.\ mol^{-1}.\ cm^{-1}$

ويعتبر كلاً من λ_{max} وε من الثوابت الفيزيائية التي تميز المركبات العضوية عن بعضها. ولا تصلح هذه العلاقة في حالة التركيزات المرتفعة جداً. لذا ينصح في التطبيق العملي استعمال منحنى التعيير القياسي (Calibration curve) وهو عبارة عن العلاقة بين الامتصاص والتركيز عند ثبوت الطول الموجي المقابل لأقصى امتصاص ضوئي للمركب. كما يمكن تقدير الكثير من المواد التي ليس لها امتصاصية (العلاقة بين الطول الموجي والامتصاص خط مستقيم) وذلك بإضافة مركبات لتكون معها معقدات لها امتصاص عند طول موجي معين.

يعتبر التحليل الطيفي للامتصاص في المنطقة فوق البنفسجية والمنطقة المرئية من الطيف أكثر الطرائق المستخدمة في التحليل الكمي والى حد ما في التحليل الوصفي للكشف عن الجزيئات أو مجموعات كيماوية معينة في المركبات.

ويمكن تقسيم مناطق طيف الامتصاص إلى أربعة مناطق على حسب نوع الانتقال الأليكتروني إلى مايلي:

أولا: طيف الانتقال الأليكتروني $n \rightarrow \pi^*$ ويطلق عليه R- Bands

ويظهر هذا الطيف نتيجة امتصاص مجاميع كيميائية غير مشبعة توجد في الجزيء مثل مجاميع النيترو O- N=O ومجاميع الكربونيل C=O والاثيلين C=C وهي ما يطلق عليها المجاميع الكروموفورية chromophoric groups. ويتميز هذا الطيف R- Bands بأن الامتصاصية الجزيئية له molar absorptivity ضعيفة جدا (ε_{max} < 100 liter/ mole. cm)

ثانيا: طيف الانتقال الأليكتروني $\pi \rightarrow \pi^*$ ويطلق عليه K- Band

ويظهر هذا الطيف نتيجة امتصاص المجاميع المتبادلة الروابط المشبعة مع أخري غير مشبعة conjugated π- system مثل مركب butadiene - C= C- C= C- ومركب mesityl oxide. وهذا الطيف من الامتصاص يحدث أيضا في الجزيئات الأروماتية المستبدل عليها مجاميع كروموفورية مثال مركب styrene, benzaldehyde, or acetophenone

ويتميز هذا الطيف بأن الامتصاص الجزيئي له molar absorptivities (ε max) يكون قوي (أكبر من 10000 liter/mole. cm).

ثالثا: طيف امتصاص الجزيئات الأروماتية ويسمى B- Bands (Benzenoid)

البنزين يظهر طيف عريض للامتصاص broad absorption band يحتوي على multiple peaks في منطقة near UV بين طول موجي (230 –270 nm) λ_{max} يحتوي البنزين على ثلاث مدارات من النوع π ويحتوي كل منها على اثنين من الأليكترونات، ويحتوي البنزين أيضا على ثلاث مدارات من النوع π^* غير مشغولة بالأليكترونات، ولذلك تحدث ثلاثة امتصاصات في الحلقة العطرية نتيجة للانتقالات $\pi \rightarrow \pi^*$.

- الامتصاص الأول في البنزين يكون ذو كثافة مرتفعة (ϵ_{max} = 6000) عند 184 nm، ويرمز لهذا الامتصاص بالرمز B.
- الامتصاص الثاني (ϵ_{max}=7900) عند 204 nm، ويرمز لهذا الامتصاص بالرمز E_2.
- الامتصاص الثالث فيظهر عند (ϵ_{max}=600) عند 256 nm، ويرمز لهذا الامتصاص بالرمز E_1

وعند استبدال chromophoric group على حلقة البنزين فان B- bands تمتص عند طول موجي أكبر بالمقارنة بحلقة البنزين بدون استبدال أي تؤدي إلى سحب حلقة البنزين لتمتص ناحية longer λ_{max}

رابعا: طيف امتصاص مجاميع الايثيلين ويطلق عليها E- Bands (Ethylenic) تميز التركيبات الأروماتية كما هو في حالة B- bands ويمكن تقسم هذا الطيف إلى E_1 and E_2 – band

عند الاستبدال على حلقة البنزين بمجاميع أوكسوكرومية Auxochromic groups مثل مجاميع الأمين – NH_2 والهيدروكسل OH والهالوجينات وهي التي تحتوي على ذرات بها أليكترونات غير مشتركة في تكوين الروابط lone pair of electrons فمثلا ذرة الأوكسيجين تحمل زوجين من الأليكترونات وكذلك النتروجين تحمل زوج واحد من الأليكترونات والكلور يحمل ثلاثة أزواج من الأليكترونات غير مشتركة في الروابط.

أليكترونات ذرات هذه المجاميع الغير مشتركة في تكوين الروابط تدخل في التأرجح مع حلقة البنزين π-electron system مما يسهل حدوث انتقال أليكتروني من $\pi \rightarrow \pi^*$ مما

يجعل الحلقة تمتص عند طول موجي أكبر من عدم الاستبدال أي تسبب ما يسمى Red shift of the E- bands.

ويتميز هذا الطيف بأن الامتصاص الجزيئي له (ε_{max}) molar absorptivities يتراوح بين 2000liter/mole.cm – 14000.

عندما تفصل رابطة فردية بين مجموعتين كروموفورية chromophore مثال المركب C=C –C=C– فانه يحدث تبادل conjugation بينها، اذ تطوف أليكترونات π على أربعة ذرات على الأقل أي تكون الأليكترونات delocalized مسببة انخفاض في طاقة الانتقال $\pi \rightarrow \pi^*$ وبذلك تزداد شدة الامتصاص ويزداد حدوثه، وعلى ذلك نجد أن $\pi \rightarrow \pi^*$ يحدث قرب 165 mμ في الاثيلين بينما يحدث قرب 217 nm في حالة مركب 1,3- butadiene وهكذا تتحرك قيمة الامتصاص نحو النطاق المرئي باستطالة الألكين المتبادل فتمتص $\pi \rightarrow \pi^*$ (benzene) 1, 3, 5- hexatriene بالقرب من 258 nm.

<u>التطبيقات الكيميائية للاطياف</u>

1– المجال الاول التحليل النوعي (Qualitative spectral analysis)

2– المجال الثاني التحليل الكمي (Quatitative analysis)

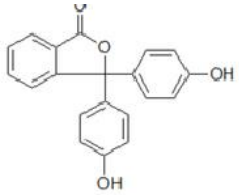
بصورة عامة كل ايون يحتوي على مستوى طاقة الكتروني غير مشبع مغطى بآخر مشبع يمتص الطاقة الضوئية الساقطة عليه.

Cu^{+2} Z = 29 Cu Z = 27

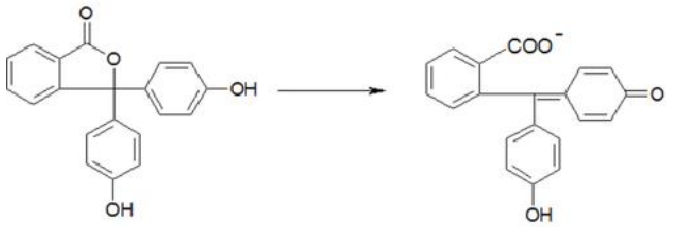
$Cu^{+2} + H_2O \rightarrow Cu(H_2O)_4)^{+2}$

الاوكسجين سوف يعطي هذا المزدوج للنحاس فيشبعه وهذا الترتيب سوف يساعد على امتصاص الطاقة الضوئية الساقطة عليه. هذا بالنسبة للمركبات اللاعضوية، اما بالنسبة للمركبات العضوية فان الجزيئات المشبعة تمتص الأشعة الضوئية اي ان جميع المركبات العضوية المشبعة في منطقة UV لا تمتص الأشعة وكذلك في VIS اما المركبات العضوية غير المشبعة تمتص من قبل UV و VIS كلما زاد عدم التشبع يزداد الامتصاص في منطقة VIS.

مثلاً B– carotene يحتوي على 11 آصرة مزدوجة متبادلة لذلك يمتص في المنطقة المرئية وان لون هذه المركبات اصفر مخضر اي انه يمتص اللون البنفسجي وكذلك لون الطماطم lycopin فانه يرجع لاحتوائة على 40– 44 آصرة مزدوجة. كذلك مثال آخر هو لون الفينول فثالين في المحيط القاعدي (Red)



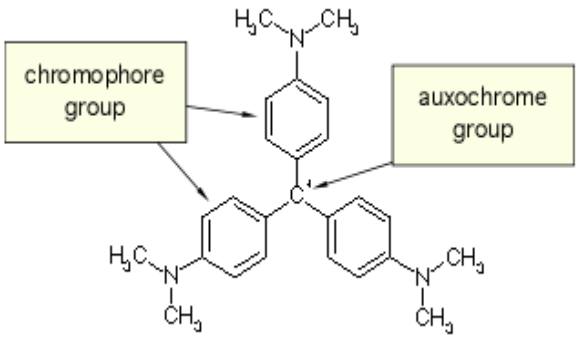
Phenolphthalein



Colourless
Benzenoid form in acidic solution

Red colour
Quinoid form in alkaline solution

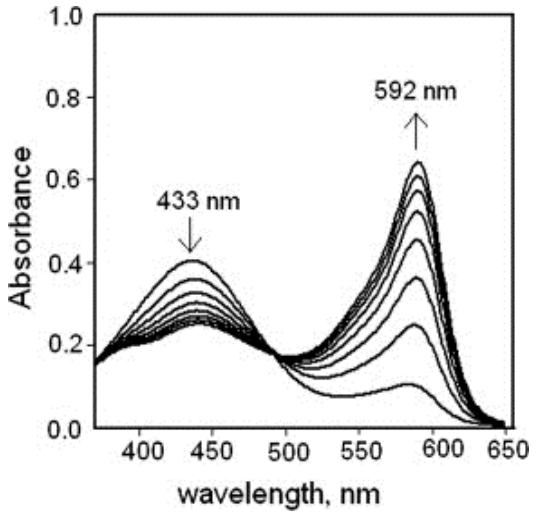
المجاميع التي تحتوي على اواصر مزدوجة متبادلة تسمى حاملة اللون (chromophore وعند تعويض بدل H بمجاميع NO_2, OH, NH نلاحظ ان اللون يزداد حيث تسمى هذه المجاميع (Auxochromes) .



حساب PKind لدليل phenol Red

ان التغيرات في طريقة الامتصاص لدلائل حامض – قاعدة كدالة لـ pH تعطي طريقة ممتازة لتقدير قيمة pK لذلك الدليل.

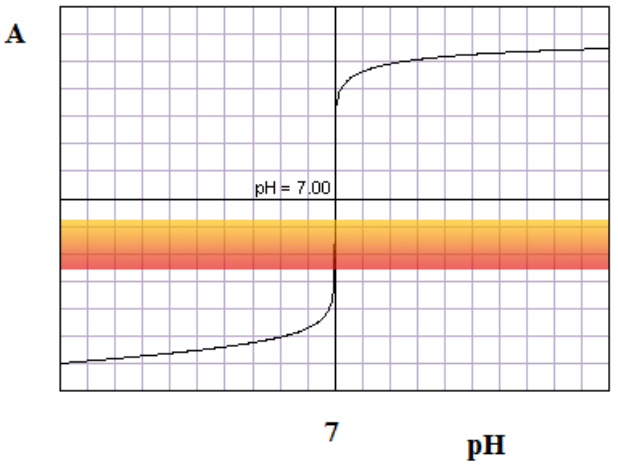
لحساب pK_{ind} نحضر محاليل لها تركيز ثابت و pH متغير لكل محلول ثم تقاس الممتصية لكل محلول من المحاليل عند λ_{max} معينة ونرسم العلاقة بين الممتصيات A ضد الاطوال الموجية لكل محلول فيتكون الشكل (8–15).



شكل (8 – 15) تغيرات الدليل

نلاحظ من الشكل ان لكل محلول قمتين، القمة الاولى عند λ_{max} =433nm وتكون فيها انحرافات اما القمة الثانية في λ=592 تكون في نفس المستوى، ونلاحظ ايضا ان القمم كلها تلتقي في طول موجي λ=500 ولها امتصاصية متساوية في هذا الطول الموجي ولذا نطلق على هذا الطول الموجي الذي تلتقي به القمم بـ Iso absorption point الذي مقداره λ=445 والطول الموجي ذو القمم المتساوية أو يسمى Iso sbestic point. وجود هذا الطول الموجي يعني ان الفينول الاحمر له تركيبتان في حالة اتزان كيميائي واحد بشكل حامض والاخر قاعدي واذا تكونت نقطتان Iso absorption point اي للمركب ثلاث تركيبات في حالة اتزان كيمياوي وهكذا.

واذا رسمنا العلاقة بين الممتصات وقيم pH نجد يتكون لدينا الشكل S اي نقطة الانقلاب لهذا المنحني Infleaction point pH = 7 :PK_{ind} هو ذلك الـ pH الذي تتساوى فيه نسبة الشكل الحامضي إلى القاعدة pH= pK_{ind}= 7 وهي طريقة لحساب pK_{ind} للفينول الاحمر.



شكل (8-16) منحني تحديد pKind للفينول الاحمر

- تقدير نسبة المخلب (chelate) أو Ligand إلى الفلز

يتكون المعقد من جزأين، جزء فلزي M والاخر لا فلزي (الليكاند) L ويكون الليكاند بشكلين (1. Organic ، 2. Inorganic) ويتكون المعقد بنسبه معينه بين Metal : Ligand

مثلا في معقد $[Cu(NH_3)_4]^{+2}$ ذو لون ازرق و هو معقد غير عضوي

M	L
Cu^{+2} غير عضوي	NH_3
1	4

هناك ثلاث طرائق لحساب نسبة L: M في معقد:

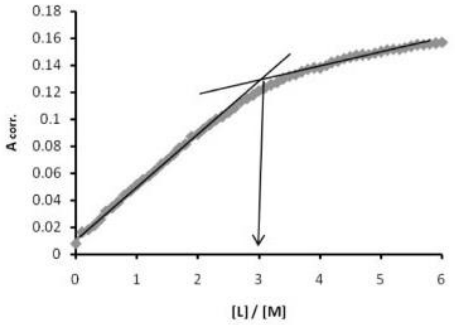
1. الطريقة الاولى: تسمى طريقة النسبة المولية mole – ratio method

وتتضمن هذه الطريقة مزج تراكيز مختلفة من L أو M مع تركيز ثابت من L أو M ثم اضافة محلول مناسب (حامض أو قاعدة) لاتمام التفاعل بين L و M ثم التخفيف إلى العلامة والمجانسة وقياس الممتصيات للمحاليل المحضرة عند λ_{max} فمثلا لتحضير المعقد:

Hg- Diphenyl Carbazon

L M اللليكاند العضوي

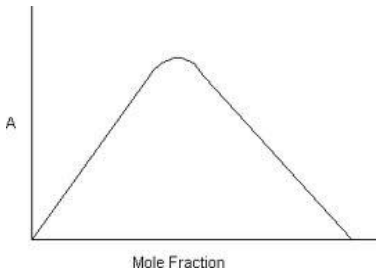
وعند قياس الممتصيات في λ_{max}= 520nm التي يكون اللون في هذا الطول اخضر فالمركب يمتص اللون الاخضر ويعطي لون ارجواني purple ثم نرسم العلاقة بين A للمحاليل المحضرة ضد تركيز الليكاند اذ ثبتنا تركيز Hg وغيرنا تركيز الليكاند.



شكل (8-17) منحني تقدير نسبة الليكاند إلى الفلز

2. الطريقة الثانية: طريقة التغيير المستمر method of continuose variation وتتضمن هذه الطريقة مزج تراكيز مختلفة من الليكاند مع تركيز مختلفة من الفلز وتحميض المحلول بقليل من H_2SO_4 والتخفيف إلى العلامة بالماء المقطر ثم بالمجانسة ثم لقياس الممتصية لكل محلول ثم رسم العلاقة بين الممتصات والكسر المولي لكل محلول بشرط ان يكون مجموع تركيز الليكاند مع الفلز متساوية في كل القناني.

M Hg^{+2}	2	1. 5	1	0. 5	0. 0	$\times 10^{-2}$
L	0	0. 5	1	1. 5	2	$\times 10^{-2}$



شكل (8 – 18) علاقة الامتصاصية بالكسر المولي

ملاحظة: ان الكسر المولي دائما لا يزيد عن (1).

3- الطرائقة الثالثة: طريقة نسبة الانحدار slop- ratio method.

تعتبر هذه الطريقة مفيدة وبخاصة للمعقدات الضعيفة. ويمكن تطبيقها للانظمة التي يتكون فيها معقد واحد فقط وعلى فرض انه يمكن اكمال التفاعل بين الفلز والكاشف بوجود زيادة من احد المتفاعلين وامكانية تطبيق قانون بير تحت هذه الظروف.

$mM+IL- - M_{Ml}$

ويمكن كتابة المعادلة الاتية: عندما يشير L إلى زيادة كبيرة جدا.

$[M_{MI}] = F_M/m$

عندما يسري قانون بير.

$Am= \varepsilon b\ [M_{MI}] = \varepsilon b\ F_M/m$

عند رسم A بالنسبة إلى F_M كبيرة جدا إلى L.

$\varepsilon BF_L/I = AI = \varepsilon b[M_{mLI}]$

يمكن الحصول على انحدارات الخطوط المستقيمة $(A/F_I, A/F_m)$ تحت هذه الظروف

كما يمكن الحصول على نسبة التجمع بين L و M من نسبة الانحدارات:

$Am/Fm//AI/FI=Sm/SI=\varepsilon b/m//\ \varepsilon b/I=I/m$

علما ان S الانحدار.

<u>اضافية أو جمع الامتصاصات</u>

حسب قانون بير ان $A=abc= Ebc/M$ واذا كان لدينا اكثر من مذاب في المحلول فتصبح المعادلة:

$$A_i = b \sum_i a_i c_i$$

Example: $KMnO_4 + K_2CrO_4$

$A_{KMnO4 + K2CrO4} = b\sum_I a_{KMnO4}\ c_{KMnO4} + a_{K2CrO4}\ c_{K2CrO4}$

المحلول يحتوي على مذيبين، اما اذا احتوى على ثلاث كما في المثال الاتي:

مثال: ضع معادلات لتقدير كل من العناصر الاتية V, Ti, Mo في مزيج منهم من المعلومات في الجدول ادناه علما بانه قد حضرت محاليل قياسية لكل من هذه العناصر الثلاثة تحتوي 4ng لكل 100 ml وعودلت مع مزيج من H_2O_2،Dil. H_2SO_4 فاعطت معقدات للعناصر الثلاثة تمتص في اطوال موجية عظمى، Mo 330 nm، Ti 410 nm، V 460 nm من المعادلات الثلاثة احسب تركيز كل من هذه العناصر.

الفلز	A ($\lambda_{max}330$)	A ($\lambda_{max}410$)	A ($\lambda_{max}460$)
MO	0.416	0.048	0.002
Ti	0.136	0.666	0.416
V	0.00	0.148	0.200
المجهول	0.248	0.857	0.714

$A_{330}=0.248=1(a_{Mo}C_{Mo}+a_{Ti}C_{Ti}+a_{V}C_{v})$

$$A_{330}=\frac{0.416}{0.004}C_{Mo}+\frac{0.136}{0.004}C_{Ti}+\frac{0.00}{0.004}C_{V}$$

$$A_{416}=0.857=\frac{0.048}{0.004}C_{Mo}+\frac{0.606}{0.004}C_{Ti}+\frac{0.148}{0.004}C_{V}$$

$$A_{460}=0.714=\frac{0.002}{0.004}C_{Mo}+\frac{0.416}{0.004}C_{Ti}+\frac{0.200}{0.004}C_{V}$$

اذ ان:-

$$a=\frac{A}{C}$$

$$C=4\frac{100}{1000}=0.2$$

اسئلة الفصل الثامن

1- توجد اربعة عوامل تؤدي إلى الانحراف عن علاقة قانون بير الخطية اشرح ذلك.

2- تظهر كرومات البوتاسيوم في محيط قاعدي اعى امتصاصية عند طول موجي 372nm ويعطي محلول قاعدي يحتوي على 3×10^{-5} مولاري من كرومات البوتاسيوم نفاذية مئوية (T%) مقدارها 71.6% عند وضعة في خلية سمكها 1 سم جد:

1 – القيمة الامتصاصيةA والامتصاصية المولارية للكرومات لهذا المحلول.

2- البوتاسيوم عند 372nm.

3- يشترط بالمواد التي تمتص UV ان تكون عديمة اللون علل ذلك.

4- $A=-\log T=\log 1/T=\log T\%$ بين صحة ذلك.

5- قارن بين طريقة النسبة المولية وطريقة التغيير المستمر لتعيين نسبة M:L

6- قرص KBr اسطواني الشكل بقطر 7.5 ملم وسمك 1.5ملم يحتوي على فيتامين D_2 (MW.= 397 gm/mole) اعطى ممتصية A=0.722 ومعامل ممتصية a= 43.2 لتر/غم- سم عند طول موجي 6.02 ميكروميتر. احسب (1) معامل الممتصية المولارية)2(ε عدد ميليغرامات D_2 الموجودة في القرص.

7- قارن بين مطياف UV- Vis منفرد الحزمة ومطياف UV- Vis ثنائي الحزمة؟

8- مادة ذات وزن جزيئي 32 g/mol ومعامل الامتصاصية المولارية ε يساوي 11000 L/mol. cm عند وضعة في خلية سمكها 1 cm تحتوي على تركيز 3×10^{-5} M. احسب: 1- قيمة الامتصاصية A لهذا المحلول،2- النفاذية المئوية T%؟

9- محلول كحولي لفيتامين D_2 ذي الوزن الجزيئي 397g/mol، أعطى امتصاصية A = 0. 722 عند وضعة في خلية سمكها 1 cm ومعامل ممتصية a= 43.2 L/g. cm عند الطول الموجي 264nm، احسب: 1

a- معامل الامتصاصية المولاري (ε).

b- تركيز الفيتامين في المحلول بوحدات mg/L.

10- ميز بين حامل اللون (Chromophore) ومطور اللون (Auxochrome)؟

11- تظهر كرومات البوتاسيوم في محيط قاعدي أعلى امتصاصية عند الطول الموجي 372nm ويعطي محلول قاعدي يحتوي 3×10^{-5} M من كرومات البوتاسيوم نفاذية مئوية T% مقدارها 71. 6% عند وضعة في خلية سمكها 1 cm، احسب:

a- قيمة الامتصاصية A لهذا المحلول، b- معامل الامتصاصية المولارية ε؟

12- اشرح مع الرسم والمعادلات استعمال طرائق uv. vis لايجاد قيمة pK للدلائل الكيميائية مع الامثلة.

13- ينحرف احيانا منحني معادلة قانون بير عن الاستقامة علل ذلك.

14- الامتصاصية المولارية تعطي دليل على حساسية الطريقة السبكتروفوتومترية وضح ذلك.

15- اعطي قانون بير وعرف كل متغير فية.

16- ما مدى الطول الموجي التقريبي المرتبط بالضوء فوق البنفسجي.

17- هل الضوء المرئي اعلى أو اقل طاقة من الأشعة البنفسجية: اشرح ذلك.

18- ارسم منحنى المعايرة كمثال لمادة مجهولة التركيز مع تسمية كل جزيء.

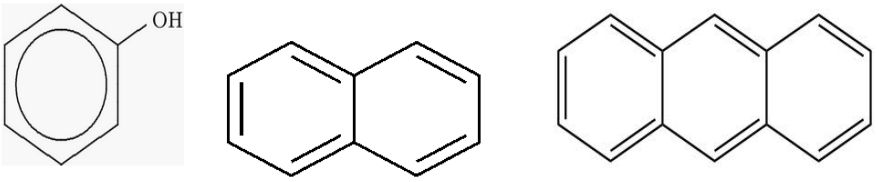
الفصل التاسع
مطيافية التألق الجزيئي molecular fluorescence spectroscopy

التألق الجزيئي وقياسات التفلور والتفسفر

عند اسقاط أشعة UV على جزيئة تمتص الجزيئة هذه الأشعة وتتهيج ذراتها وتنتقل لمستوى عالي ثم ترجع للمستوى الواطيء مع انبعاث فوتونات وهو ما يدعى بالتفلور Fluorescence وفي حالات قليلة يحدث ان الجزيئة تزحف الة المستوى الثلاثي شبة المستقر قبل ان تنبعث بالتفسفر phosphorescence.

- ما الجزيئات أو المواد التي يجب ان تتفسفر أو تتفلور؟

1. اذا كانت المادة عضوية فيجب ان تحتوي على اواصر مزدوجة متبادلة.



conjucated double bond

هذه الاواصر تعطي نوع من القوة والمتانة للجزيئة حيث عند سقوط أشعة UV على هذا النوع من الجزيئات سوف لا تتأثر اي تبقى ثابتة Rigid وهذا النوع من الجزيئات لها القابلية على تحويل الأشعة الساقطة إلى اطياف تفلور أو تفسفر وتسمى هذه الجزيئات (poly aromatics hydrocarbon PAH) وهذه الهيدروكاربونات توجد في النفط الخام.

2. يجب ان تكون الجزيئة أو المادة حاوية على مجاميع مانحة للالكترونات مثل NH, OH

3. ان تكون الجزيئة غير متجانسة اي تركيبها Unsymitrical

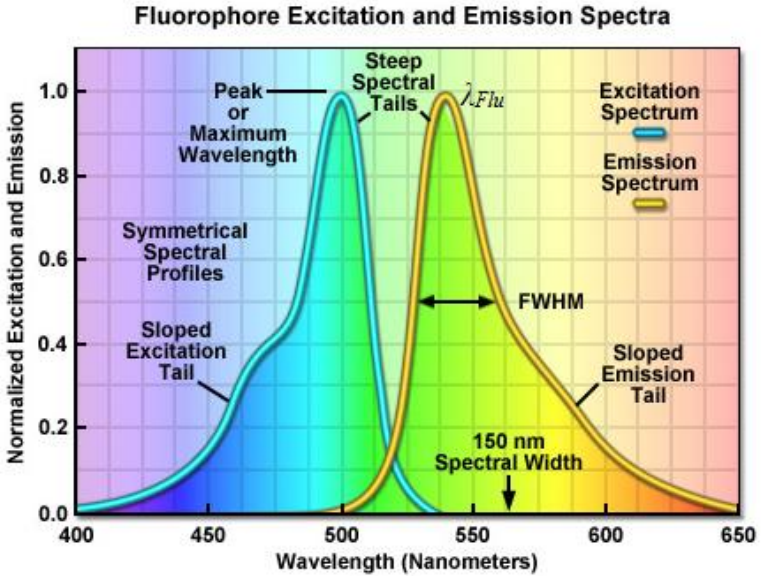
4. لا تحتوي على مجاميع ساحبة للالكترونات مثل Halides, – N=N– ,– COOH

5. معظم المركبات تعطي تفلورا وتفسفرهي المركبات العضوية المعدنية عند سقوط اشعاع UV عليها وذلك لان اضافة الايون الفلزي إلى المركبات يضفي عليه متانة تجعله لا يتذبذب بسهولة مثال اذا كان AL^{+3} ومادة عضوي اخرى لا يتأثران بأشعة UV ولكن عند تفاعلهما يتكون مادة متفلورة

طيف الاثارة Excitation Spectrum

ان الشعاع الساقط الذي تمتصه الجزيئة يدعى بطيف الاثارة Excitation spectrum λ_{Ex} اما طيف الخارج بعد عملية التهيج يدعى بطيف التفلور Fluorescence λ_{Flu} .

دائما طيف الاثارة هو صورة مرآة لطيف التفلور حيث الطيف نفسة باتجاهين متعاكسين وكما موضح في الشكل(9-1).



شكل (9 -1) Qualitative Fluorescence Analysis

- تستغرق عملية الامتصاص 10^{-15}sec اما عملية الانبعاث تستغرق 10^{-2}sec هذان الطيفان يستفاد منهم لغرض:

أ. تحليل نوعي

ب. تحليل كمي

نستخدم هذين الطولين لتمييز مادة عن مادة اخرى وهذا هو التحليل النوعي، اذ لا توجد مادتين لهما نفس λ_{Flu} أو λ_{Ex}.

قياس شدة التفلور أو التفسفر

لاجل تباين العلاقة بين تركيز المادة المتفلورة أو المتفسفرة و شدة التفلور (F) نلجأ إلى المعادلة:

$$F = P_0K(1 - 10^{-A})$$

اذ ان: –

P_0 = الشعاع الساقط ، K = ثابت نيوتن على الجهاز المستخدم، A = الامتصاصية.

هذه المعادلة الاسية يمكن الاستفادة منها بعد تحويلها إلى معادلة ابسط باستخدام المتوالية الاسية (معادلة تيلر) Taylar's Series of Expension of A

$$F = P_o K(2.303A - \frac{(2.303A)^2}{2} + \frac{(2.303A)^3}{3})$$

ولاجل ان تتفلور أو تتفسفر المادة يجب ان:–

1. يكون المحلول مخفف جدا ويفضل ان يكون التركيز قليل باذ ان قيمة A لا تزيد عن 5×10^{-2} واذا زاد عن ذلك فالتقلور يقل.
2. ان تكون المادة واحدة بمتفلورة أو متفسفرة فقط عند $A<5\times10^{-2}$ فعند التربيع تصبح

$F=P_0\ K\ 2.303\ A$

$A=P_0\ \emptyset_f\ abc$

$F=P_0\ \emptyset_f\ abc$

اذ $Slop = \emptyset_f\ abc$، FC في التراكيز القليلة اقل من 0.01 .

$$\emptyset_f = \frac{hf}{hf + h_{pc} + h_{ISC}}$$

hf = الجزيئات المتفلورة، h_{pc} = الجزيئات التي تعاني تهيج، $\emptyset_f$ = محصول كم التفلور (Fluorescence Quantumd)، h_{ISC} = الجزيئات التي تعاني تحول داخلي.

وهذا يوضح امكانية قياس تراكيز قليلة على عكس عملية الامتصاص.

- فائدة محصلة التفلور: نستفاد منه لمعرفة عدد الجزيئات المتفلورة وكلما كانت قيمة اكبر كانت شدة الفلورة اعلى، اي ان الجزيئات المتفلورة اكبر.
- اي مادة لها A اكبر مكون $\emptyset_f$ اكبر اي يتناسب تناسباً طردياً وهذا التحليل يسمى تحليل كمي تفلوري Fluoremetry أو تحليل كمي تفسفري phosphometry.

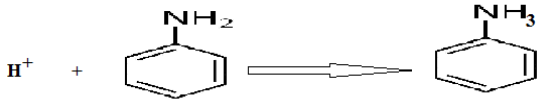
<u>الاخماد Quenching</u>

يقصد بالاخماد هبوط أو انحسار شدة التفلور أو التفسفر داخل المحلول بسبب عوامل من المحلول نفسة، واسباب الاخماد هي:–

1. زيادة تركيز المحلول عن الحد اللازم اي لا يعطي A اكثر من 5×10^{-2} وهذا الانطفاء بسبب زيادة التركيز يسمى احيانا Inner Filter Effect (تأثير المرشح الداخلي) وسببة ان الجزيئات غير المتفلورة عند وجودها في المحلول ستمتص طيف التفلور من الجزيئات

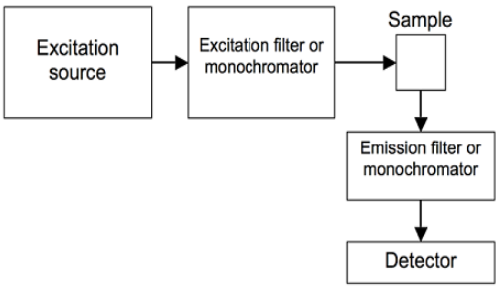
المتفلورة وهذا يدعى امتصاص ذاتي اي يسمى اخماد تركيزي لذلك لا تبقى العلاقة خطية بين F & C اي كلما يزداد C يزداد الاخماد.

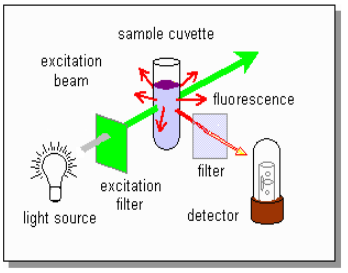
2. pH المحلول: عند تغير pH المحلول يغيرمن التركيب الجزيئي للمادة. مثلا الانيلين في محيط pH له (13- 5) تعطي تفلور ازرق لكن خارج هذه المنطقة تجمد التفلور بسبب زيادة تركيز H^+ حيث التفاعل:



اذا كان اكثر من 13 فيغير تركيب المركب.

لقياس شدة التفلور يستخدم مطياف التفلور Spectrofluorometer





شكل (9- 2) مطياف التفلور

يحتوي جهاز مطياف التفلور على موحد لون ثانوي واولي بينماالـspectrophotometer يحتوي موحد لون اولي فقط وان PMT توجد بزاوية 180^0 مع مصدر التشعيع لكي يرى الشعاع لكن هنا الزاوي زاوية 90^0 مع مصدر التشعيع لكي PMT يرى الشعاع المتفلور فقط. الجزيئات المتفلورة تلمع مثل النجوم ويتم التفلور في درجة الحرارة الاعتيادية.

<u>جهاز الفسفوروسكوب لقياس التفسفر Phosphoroscope</u>

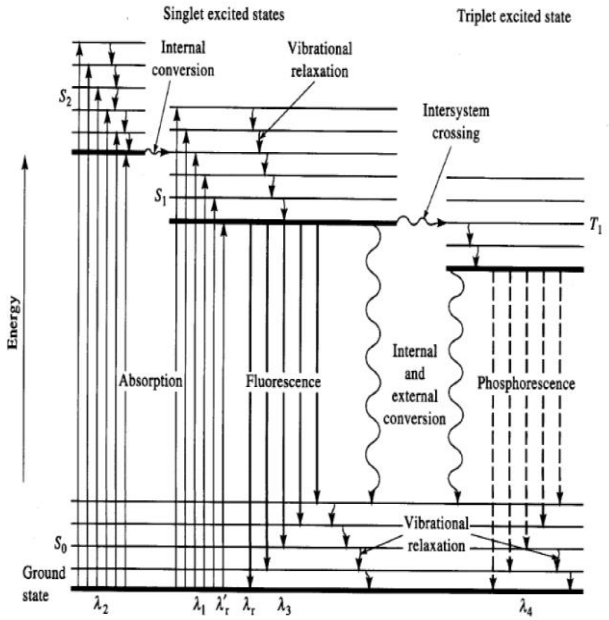
دورق الجهاز يحتوي على سائل النتروجين N_2 ويوضع في اسطوانة ذات ثقبين يدخل UV النقي في احدى الثقبين ويمر بمحلول العينة. اذابة العينة في مزيج مكون من الاثيل اثير والايزوفنيل وكحول الاثيل بنسبة (5:5:2) ولا يستخدم الماء للاذابة لان H_2O في درجة حرارة سائل N_2 يتبلور قينفصل على شكل بلورات. اما هذا المزيج لا يتبلور فلا ينفصل عن المذاب وانما يبقى متجانس. يحدث التفسفر في درجة حرارة واطئة مثل درجة N_2 وذلك لان هذه الدرجة تساعد على الانتقال من T_1، S_1، S_o وعندما درجة N_2 الجزيئات في

درجة حرارة واطئة سوف تكون التصادمات والتذبذبات قليلة جدا فاذا كان هناك تفسفر يبقى ثابت دون تداخل مع اي شيء وبصورة عامة يرافق التفسفر عملية التفلور. ويتم التفسفر في درجة حرارة الغرفة Room temperature phosphorescence RTP نضع المادة على ورقة الترشيح ونضيف المذيب عليها ويتم التفاعل ويبقيان ضمن الورقة ثم تجفيف الورقة ثم توضع هذه الورقة في جهاز الفسفوروسكوب (المادة متصلة على ورقة الترشيح).

- الفرق بين التفلور والتفسفر

هناك فروقات بين التفلور والتفسفر ومنها: -

1. عمر النصف للتفلور بين (10^{-7}–10^{-9}) اي تقريبا 10^{-8} sec اما عمر النصف للتفسفر يكون بين 10^{-1}- 10 ثانية.
2. الاطوال الموجية للتفسفر اطول من التفلور.
3. التفلور يتضمن انتقال الجزيئة المتفلورة من مستوى $S_0 \rightarrow S_1$ اما التفسفرر من مستوى $T_1 \rightarrow S_0$ والشكل (9- 3) يوضح ذلك.

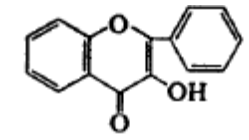


شكل (9- 3) مخطط المطيافية ومستويات الطاقة

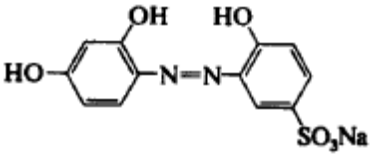
تطبيقات قياس التفلور Fluormetric applications

تستخدم طرائق قياس التفلور مدى من التراكيز الواطئة وبحساسية عالية مقارنة بالتقنيات الطيفية الاخرى. ان هذه التقنية (F) لاتعتمدعلى قوة المصدر كما في التقنيات الطيفية الاخرى والتي تكون فيها الامتصاصية A هي قياس للنسبة بين الشعاع الساقط P_0 والشعاع النافذP فعند حصول زيادة في P_0 تحصل زيادة في في نفس الوقت في P حيث النسبة تبقى ثابتة اي ان A لاتتاثر بهذا التغيير. اما طرائق قياس التفلور فان الزيادة الحاصلة في شعاع الاثارة P تتناسب طرديا مع شعاع التفلور F **اي** تكون مؤثرة في A والتي تمثل الجزيئات المتهيجة اي ان المادة التي لها A اكبر مكونة كمة المادة المتفلورة $\emptyset_f$ اكبر اي يتناسب تناسبا طرديا، وهذا يؤدي إلى تضخيم الاشارة الناتجة من الكاشف مما يزيد الحساسية من 2 إلى 4 رتب مقارنة بالطرائق الطيفية المناظرة.

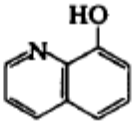
ان التطبيقات المهمة لهذه التقنية ياتي في مقدمتها تحليل الغير المباشر للفصائل اللاعضوية بواسطة كواشف لها خاصية تفلورية مميزة ومن اهمها كما يلي:



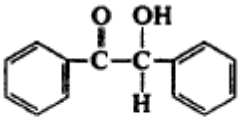
Flavanol
(Reagent for Zr and Sn)



Alizarin garnet R
(Reagent for Al, F^-)



8-Hydroxyquinoline
(Reagent for Al, Be, and other metal ions)



Benzoin
(Reagent for B, Zn, Ge, and Si)

ان هذه الكواشف الشائعة الاستخدام تكون معقدات مع الايونات والتي تعطي اطوال موجية مختلفة لكل من الطول الموجي للاثارة والتفلور وهذا بالمقابل لم نجد مادتين لهما نفس الاطوال الموجية المعنيين والجدول(9-1) يبين ذلك.

جدول (9-1) الطرائق الفلورمترية الانتقائية لبعض الايونات الاعضوية.

Ion	Reagent	Wavelength, nm		Sensitivity	Interference
		Absorption	Fluorescence	μg/ml	
Al^{3+}	Alizarin garnet R	470	500	0.007	Be, Co, Cr, Cu, F^-, NO_3^-, Ni, PO_4^{3-}, Th, Zr
F^-	Al complex of Alizarin garnet R (quenching)	470	500	0.001	Be, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, PO_4^{3-}, Th, Zr
$B_4O_7^{2-}$	Benzoin	370	450	0.04	Be, Sb
Cd^{2+}	2-(*o*-Hydroxyphenyl)-benzoxazole	365	Blue	2	NH_3
Li^+	8-Hydroxyquinoline	370	580	0.2	Mg
Sn^{4+}	Flavanol	400	470	0.1	F^-, PO_4^{3-}, Zr
Zn^{2+}	Benzoin	—	Green	10	B, Be, Sb, Colored ions

اما المركبات العضوية فقد تم تحليلها مبكراً فالمركبات العضوية التي تحتوي على حلقات اروماتية عموما يمكن تحليلها بتقنية قياس التفلور اما المركبات الاروماتية الغير متجانسة يمكن ان تعطي فسفرة. ان المركبات الاروماتية البايولوجية والصيدلانية والبيئية ذات الخاصية الاروماتية يمكن تحليلها تفلورياً أو تفسفرياً الجدول (9–2).

جدول (9– 2) نماذج مختارة من المركبات العضوية.

Class	Compounds[a]
aromatic amino acids	phenylalanine (F) tyrosine (F) tryptophan (F, P)
vitamins	vitamin A (F) vitamin B_2 (F) vitamin B_6 (F) vitamin B_{12} (F) vitamin E (F) folic acid (F)
catecholamines	dopamine (F) norepinephrine (F)
pharmaceuticals and drugs	quinine (F) salicylic acid (F, P) morphine (F) barbiturates (F) LSD (F) codeine (P) caffeine (P) sulfanilamide (P)
environmental pollutants	polycyclic aromatic hydrocarbons: pyrene (F) benzo[*a*]pyrene (F) organothiophosphorous pesticides (F) carbamate insecticides (F) DDT (P)

[a]*Abbreviations:* F = fluorescence, P = phosphorescence, LSD = lysergic acid diethylamide, DDT = dichlorodiphenyltrichloroethane.

اسئلة الفصل التاسع

1- هناك عوامل فيزياوية وكيمياوية تساعد في زيادة شدة تفلور المادة.

2- يسجل طيف التفلور بشكل صورة لطيف الأثارة.

3- ما الإخماد quenching؟ تكلم عنة موضحاً أسبابه وطرائق معالجته.

4- استعمال EPA كمذيب بدلا من الماء في تحليل المركبات تفسفريا علل ذلك.

5- قارن بين التفلور والتفسفر.

6- يستغرق طيف التفسفر مدة اطول من طيف التطور.

7- قارن بين المعايرة المباشرة والمعايرة باضافة القياسات.

8- لماذا التحليل التفلوري اكثر حساسية للجزيئات ذات التراكيز الواطئة من التحليل بأشعة UV– Vis.

9- ما دور الاسترخاء الاهتزازي في العمليات التفلورية

10- في تجربة مختبرية تم تحضير منحنين للمعايرة لتعين الكوينين، اي من المتغيرات التجريبية يمكن اجرائها لفصل المخططين

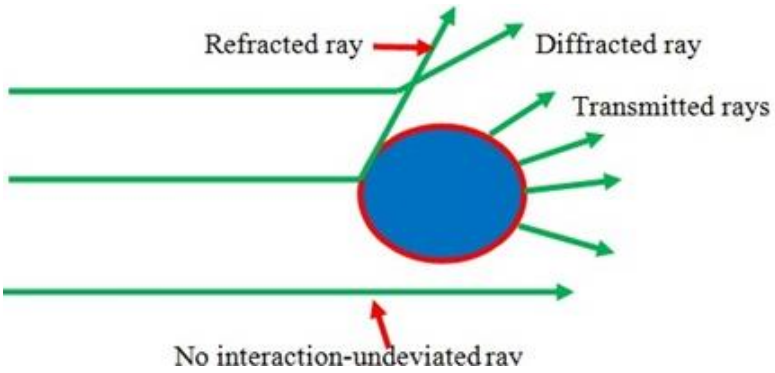
11- ارسم مخطط جهاز السيكتروفوتومتري مؤشرا على اجزاءه.

الفصل العاشر
استطارة أو بعثرة الضوء Light scattering

استطارة الضوء:

المقصود بها التغير العشوائي في متجهات انتشار الضوء، ان شدة الشعاع المبعثر تعتمد على ما يلي:-

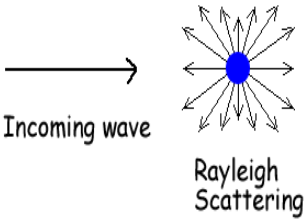
1. طول موجة الشعاع الساقط.
2. الشكل الهندسي للجسيمات المبعثرة للشعاع. وقد يكون الشعاع المبعثر بتردد يساوي لتردد الشعاع الساقط وتدعى هذه الظاهرة بعثرة أو استطارة رايلي، أو مختلفة عند ذلك بسبب تأثير رامان وتدعى الظاهرة بعثرة أو استطارة رامان.



شكل (10- 1) بعثرة الضوء

بعثرة رايلي Rayleigh Scattering

عند سقوط الشعاع الاولي (P_o) على الجسيم يحدث تفاعل بين الشعاع والجسيم ويتكون جسيم جديد وهذا الجسيم يتصرف وكأنه مصدر ضوئي. اي ان له العزم الكهربائي للجزيئة التي تتصرف وكأنها مصدر ضوئي يشع بنفس التردد السابق وحالة اتحاد الشعاع في الجسيم حالة أنية. اي عندما يزول الشعاع الاولي يرجع الجسيم إلى حالته الاولى اما استمرار الشعاع فيصبح الجسيم كمصدر ضوئي بشرط ان يكون الطول الموجي للشعاع الساقط اكبر من قطر الجزيئة (الجسيم) اما اذا كان اقصر فلا تحدث بعثرة رايلي بل تحدث بعثرة ثانية تسمى بعثرة تندل Tyndall Scattering اذ تحدث بدل البعثرة انعكاسات طبقية أو الشرط الاخر هو ان تكون الجزيئة شفافة.



- **اهمية بعثرة رايلي:** يكون استخدامها لغرض التحليل الكمي للمحاليل شبه الغروية Colloids وتتضمن الطريقة تحضير محاليل شبه غروية للمادة سواء كانت ايونية أو جزيئية ثم شدة بعثرة رايلي ثم رسم العلاقة بين تلك الشدات (البعثرات) أو الاستطارة (S) مع التركيز ومن منحني المعايرة يمكن الحصول على التركيز لمحلول المجهول. بشرط يحضر المحلول بشكل غروي (حقيقية).

- **معادلة بعثرة رايلي**

$$P_r = P_0[\frac{n_1^2 - n^2}{n^2} - \frac{NV^2}{\lambda^4 r^2}](1 + COS^2B)\ \text{Rayleigh's equation}$$

اذ ان:-

P_r = شدة الشعاع المبعثر بعد سقوطه على الجسيمات شبه الغروية.

P_o = شدة الشعاع الساقط على الجسيمات.

n, n1 = معامل الانكسار لكل من الضوء والجسيمات شبه الغروية.

N = عدد الجسيمات شبه الغروية. V = حجم الجسيم شبه الغروي.

λ = الطول الموجي للشعاع الساقط.

r = المسافة بين خلية الجسيمات شبه الغروية وPMT (المكشاف)

B= الزاوية بين موقع مصدر الشعاع الساقط و موضع المكشاف.

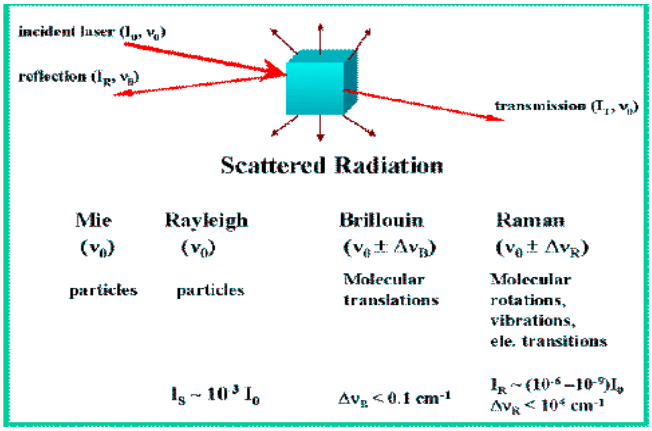
الجسيمات شبه الغروية تعكس الشعاع الساقط عليها بزاوية مختلفة 45^0، 135^0، 180^0 تحت حالات امتصاص للضوء وليس بعثرة لكن اذا كان المصباح يشكل مع PMT زاوية معينة سوف يحدث بعثرة هنا.

$S= Kbc$

ويطلق على البعثرة تسمية اخرى وهي التعكيرية (S= Turbidence) لان المحلول شبه غروي بينما تسمى امتصاصية المحلول الحقيقي.

$S\alpha C$

اذ ان S = بعثرة بينما C = التركيز.



شكل (10– 2) بعثرة جزيئات المحلول

وهذا القياس يطلق عليه القياس الكدري أو التعكيري في زاوية 180^0 Turbidimetry وعند القياس في اي زاوية تسمى بالضبابية Nephelometry وتمثل بالمعادلة الاتية:

$Pr = KP_0C$ Pr α C

ويمكن كتابة معادلة S باسلوب آخر.

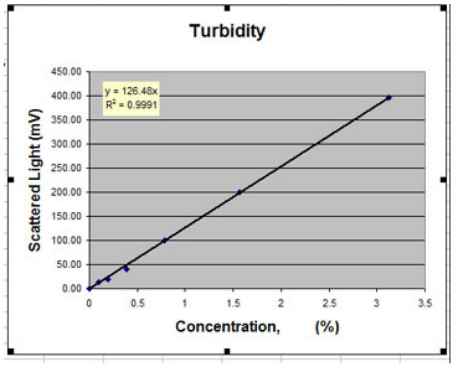
$$S = Kbc = \log\frac{P_0}{P_t}$$

اصل هذه المعادلة من المعادلة الاتية:

$$S = K\frac{d^3bc}{d^4 + \lambda^4\alpha}$$

$$S = K^{-}bc$$

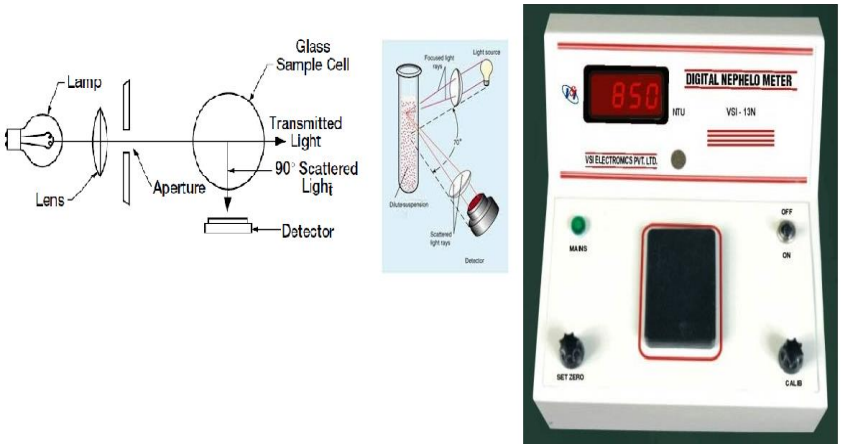
d = قطر الجسيم شبه الغروي، b = سمك الخلية، c = التركيز للجسيمات شبه الغروية gll، λ = الطول الموجي للشعاع الساقط، α & K ثوابت تعود إلى مطياف التعكرية أو الضبابية.



شكل (10- 3) منحني قياس العكورة

من المعادلة الخاصة باستطارة رايلي نلاحظ تواجد علاقة بين P_0KN اذ معاملات انكسار n, n_1 وكذلك v نتوصل انها تساوي P_0Kcb اذ عدد الجسيمات يتناسب مع التركيز وسمك الخلية. ونلاحظ ان P_0 كلما ازداد فالبعثرة تزداد. فأفضل طول موجي نستخدمه كمصدر لشعاع ساقط على الجسيمات شبه الغروية هي الاقوى بطاقة اكبر ذو طول موجي قصير اي في المنطقة UV البعيدة وكذلك أشعة الليزر الذي طاقته عالية فالبعثرة تزداد مهما كان التركيز قليل. فالجهاز يتحسس مهما كان التركيز قليل ونستطيع اسقاط اشعاع ابيض على الجسيمات فيتبعثر اللون الازرق فقط لان طوله الموجي اقصر طول موجي في المنطقة المرئية.

فأفضل شعاع هو الشعاع الابيض فعندما يتبعثر اللون الازرق فاللون النافذ هو اللون الاحمر وهذا ما يفسر ظهور السماء باللون الازرق بالنهار وعند الغسق تظهر باللون الاحمر. ويلاحظ ان معامل الانكسار للمذيب والجسيمات يؤثران على قيمة P_r كثيرا لان n مربعة لذلك يؤثر ايضا الحجم لانه مربع ايضا. الجهاز المستخدم لقياس التعكيرية يدعى مقياس الكدرية Turbidimeter يمكن استخدام اي سبكتروفوتوميتر كمقياس للتعكيرية أو الكدرية. الجهاز المستخدم لقياس الضبابية يدعى مقياس الضبابية Nephelometer شكل(10-4)، يمكن استخدام السبكتروفوتوميتر كمقياس للضبابية لان الضبابية تنكسر بزاوية معينة تمر 180° اذ يمكن القياس بزاوية الشعاع الساقط ويحتاج لموحد لون واحد في قياس الضبابية.



شكل (10- 4) جهاز قياس الضبابية ومخطط مسار الشعاع

<u>العوامل المؤثرة على حجم الجسيم شبه الغروي:</u>

اي التي تؤثر على V وهي:-

1. يجب استخدام خلايا (لوضع المحلول) موشورية الشكل (رباعية أو خماسية الاضلاع) ولا يجوز استخدام انابيب اسطوانية كخلايا وذلك لان الاخيرة ستؤدي إلى تشتت الضوء الساقط والى خطأ بالقياس.
2. درجة الحرارة: تكون ثابتة لكل من المحاليل القياسية والمحلول المجهول (رسم العلاقة بين C & S).
3. كيفية الاضافة للمحاليل المحضرة colloid particle أو كيفية مزج المحاليل كما في تحديد نسبة الكبريتات، مثلاً:

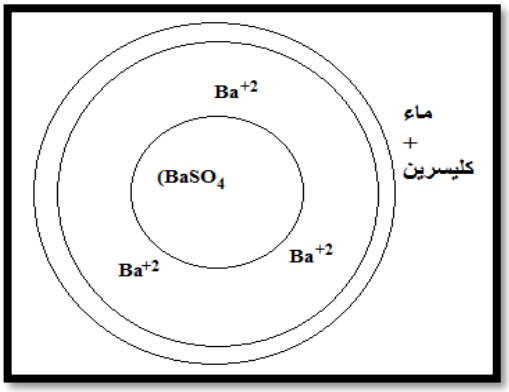
$$SO_4^{-2} + BaCl_2 \rightarrow (BaSO_4)_n$$

- جسم شبه غروي:

لجعل الجسيمات شبه الغروية بشكل محلول يجب ان تكون حاملة شحنة موجبة أو سالبة تتشابه لجميع الجزيئات ناتجة من التصاق جزيئات Ba على سطح المحلول شبه الغروي ويسمى المحلول الناتج محلول شبه غروي (suspensoid). ويجب عند اضافة SO_4^{-2} إلى Ba^{+2} أو بالعكس فيجب ان تكون الاضافة نفسها لكل المحاليل.

4. وقت المزج يجب ان تكون متساوي لكل المحاليل.
5. مدة بقاء المحلول شبه الغروي يكون متساوي لكل المحاليل القياسية والمجهول.

6. ظروف اضافة محلول المعدل يحتوي على مثلا glycerene + NaCl+HCl وgelatine وهذا المزيج يسمى بالمحلول المكيف conditioning solution
الفائدة من المحلول المعدل هو لزيادة ثبات الجسيمات شبه الغروية اي لمنع التصاقها مع بعضها، اذ يحيط الكليسرين بالشحنة فيثبتها وعادة ما يحتوي الكليسرين على الماء فهذه الطبقات من الكليسرين والماء تمثل كرة مطاطية وبالاتي يبقى المحلول شبه غروي اي عالق وليس راسب.



شكل (10- 5) تحديد كمية الكبريتات بشكل غروي واستخدام جهاز العكورة في القياس

<u>تطبيقات مطيافية بعثرة رايلي:</u>

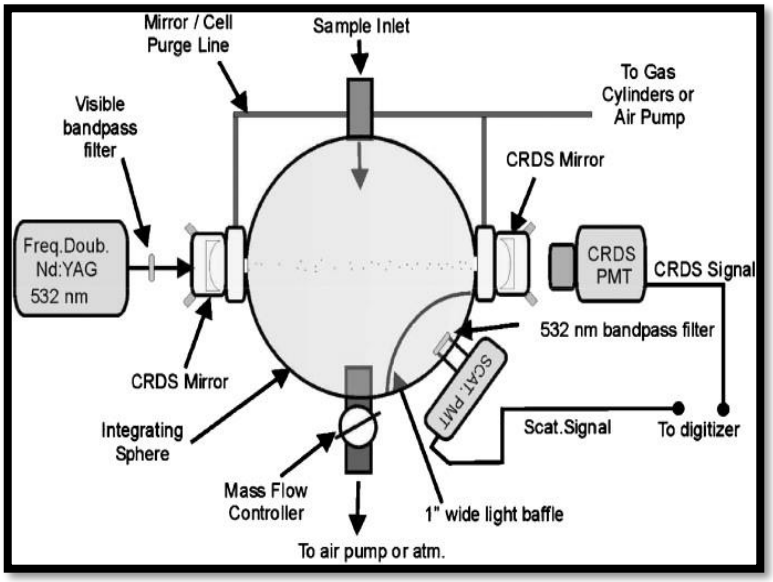
1. لتعيين الغازات كالادخنة وانواع الغبار الجوي (هبآآت) التي هي كالعادة كاربون واكاسيد بعض الفلزات بعض الفلزات واللافلزات والتربة... الخ. تتواجد هذه المواد بالجو بشكل جسيمات شبه غروية (هبآآت + هواء) اي (جسيمات صلبة + هواء) فتعتبر الجسيمات الصلبة هي المذاب والهواء هو المذيب فهذا المحلول شبه الغروي يمكن تحليله بطريقة بعثرة رايلي.

2. لحساب تقدير الاوزان الجزيئية للبوليمرات، وذلك بالاستعانة بالمعادلة Debye equation يجب ان يكون تركيز البوليمر معلوم في هذه المعادلة وكذلك التعكيرية S ومعاملات الانكسار n_1, n والطول الموجي للشعاع الساقط λ فنيتطيع حساب الوزن الجزيئي للبوليمر.

3. تقدير حجم الجسيم شبه الغروي، وذلك بمساعدة معادلة Gan equation بشرط ان يكون الطول الموجي للشعاع الساقط على الجسيم شبه الغروي اطول من قطر الجسيم ب 20 مرة ويجب ان توفر المعلومات المذكورة سابقاً (λ, n_1, n, S, C) فتحسب بواسطة

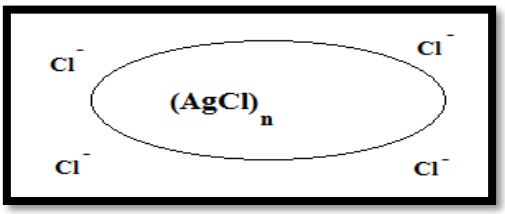
معادلة كان حجم الجسيم. وهناك مخطط مبسط يساعد في قياس شدة الضوء المبعثر بآلية الهباءات الجوية.

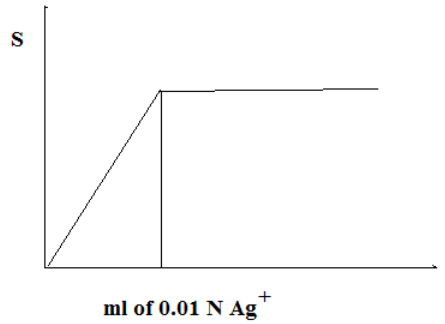
4. اذ يتم ادخال النموذج الهوائي الحاوي على الادخنة إلى الجهاز بالاستعانة بساحبة هواء ذات مسيطر للجريان وعندما يملأ الهواء الخلية يتم تسليط الضوء المناسب، اذ يتم بعثرة الضوء من خلال الجسيمات العالقة بالهواء وبما ان الجهاز مزود بمكشاف عندئذ يتم القياس والتشخيص.



شكل (10- 6) قياس الهباءات الجوية

5. التسحيحات الكدرية أو العكورية Turbidimetric Titration من الممكن تسحيح اي ايون اذا امكن تحويلة إلى جسيمات شبه غروية مثلا: من الممكن تسحيح ايون Cl^- مع ايون Ag لتكوين جسيم AgCl (N من الجسيمات) واي الايونين اكثر اي Cl و Ag محتثة تظهر على الجسيم وكذلك تسحيح SO_4^{-2} مع Ba^{+2}. فبعد كل اضافة نضع الخلية في جهاز سبكتروفوتوميتر لقياس التعكرية.





شكل (10 – 7) التسحيحات الكدرية

في هذه التسحيحات ان يكون حجم الجسيم الغروي ثابت ويجب ان يكون التسحيح بطيء اي ان الاضافات بطيئة لكي لا تنمو إلى بلورات كبيرة كلما اضفنا المرسب ويجب ان تكون الجسيمات الغروية يزداد طرديا كلما اضفنا المرسب بحيث الوصول إلى نقطة نهاية التسحيح.

6. قياس كدرية الماء: جرت العادة بأن تقاس تعكيرة الماء سواءً مياه الشرب أو مياه صناعية باستخدام قياس التعكيرية وحساب قيمة S. هناك جهاز خاص عادة يستعمل في اسالة الماء.

وحدات تعكيرية جاكسون Jackson Turbidity Unit (JTU) فاذا كان الماء عكراً جداً فنستخدم القياس من (4000 – 0) اما اذا كان الماء عكرا فنستخدم القياس (100 – 0)

شكل (10- 8) تدرج كمية العكورة بوحدات NTU

شكل (10- 9) جهاز قياس العكورة

استطارة رامان Raman spectroscopy

$\acute{\upsilon}_i$ العدد الموجي للشعاع الساقط. وان تردد الشعاع الساقط ≠ تردد الشعاع المبعثر

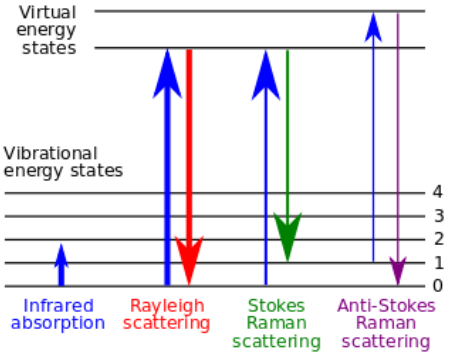
$\acute{\upsilon}_R \neq \acute{\upsilon}_i$

والفرق بين الترددين أو العددين الموجبين.

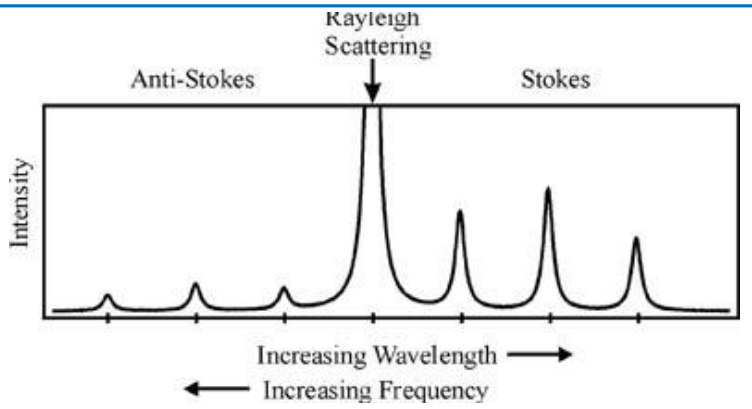
$$\acute{\upsilon}\Delta = \pm (\acute{\upsilon}_i - \acute{\upsilon}_R)$$

- تأثير رامان Raman effects

تردد الشعاع الساقط اكثر من تردد الشعاع المبعثر عندما تكون طاقة الفوتونات الساقطة اعلى من طاقة الفوتونات المبعثرة تسمى هذه المبعثرة بمبعثرة ستوكس (Stokes).



شكل (10- 10)



شكل (10 – 11)

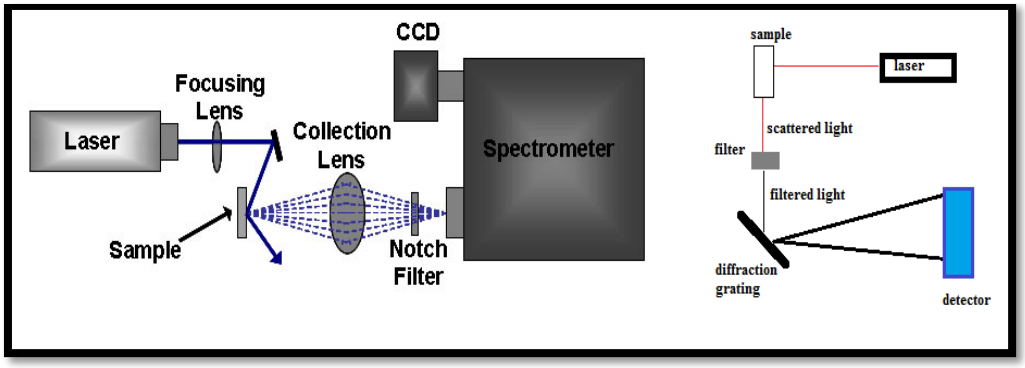
الجهاز سوف يرسم هذه الطاقات نلاحظ ان تردد anti اكثر من stoke لكن شدة ستوك اكثر يكون الجهاز المستخدم لقياس اطياف رامان غالي الثمن وخاصة اذا احتوى على مصدر ليزي. كقاعدة تظهر دائما اطياف بعثرة رايلي مع اطياف بعثرة رامان وليس العكس لذلك تتخذ طيف استطارة رايلي كوحدة قياس لـ stokes وantistokes.

– استخدامات مطيافية رامان

تستخدم مطيافية رامان لنفس الغرض الذي استخدمت من اجله اطياف امتصاص ما تحت الحمراء. هناك مقارنة بين مطيافية رامان ومطيافية امتصاص ما تحت الحمراء:

1. مطيافية رامان تستخدم لاغراض التحليل النوعي ويمكن للمركبات والمجاميع الفعالة العضوية والغير العضوية بحضور الماء أو عدم حضوره كمذيب بينما مطيافية IR يجب ان يكون المذيب غير الماء.
2. مطيافية رامان تستخدم الاشعاعات فوق البنفسجية والمرئية وتحت الحمراء بينما مطيافية IR يقتصر التحليل على اطياف IR فقط.
3. في مطيافية رامان يجب ان يغير الشعاع الساقط على الجزيئة قابلية استقطابها، اما IR يجب ان يغير العزم الازدواجي للجزيئة بسبب امتصاص أشعة IR من قبلها.
4. طيف رامان يتكون من رسم العلاقة بين تغير رامان ($\Delta\acute{\upsilon}$) وضد الاشارة التي يسجلها الانبوب الضوئي اما طيف IR فيرسم العلاقة بين ($\Delta\acute{\upsilon}$) ضد T% ويكون الرسم لكلا الطيفين واحد عكس الاخر.

ويمكن اعتبار اطياف رامان هي مكملة لاطياف IR لنفس المركب. ان اطياف رامان اقل تعقيد من اطياف IR.



شكل (10- 12) مخططات لجهاز قياس اطياف رامان

اسئلة الفصل العاشر

1- قارن بين القياس الضبابي والقياس التعكيري.
2- بين اوجه الشبه والاختلاف بين التحليل باطياف رامان واطياف ما تحت الحمراء.
3- اكتب معادلة رايلي، وبين معنى كل حد فيها.
4- ميز بين بعثرة رايلي وبعثرة رامان.
5- عدد العوامل التي تؤثر على حجم الجسيم شبه الغروي.
6- بين كيفية قياس كدرية الماء مبينا نوع الوحدات.
7- ارسم مخطط اطياف رامان مبيناً ايهم اعلى طاقة من مكوناته.
8- ما تطبيقات مطيافية بعثرة رايلي.

الفصل الحادي عشر
امتصاص الأشعة والقياس باطياف ما تحت الحمراء
IR

الأشعة تحت الحمراء

هي المنطقة التي تكون تحت المنطقة المرئية مباشرة ولها طول موجي يتراوح بين 2.5–25 ميكروميتر ومن الوحدات الاشهر من الطول الموجي هي مقلوب الطول الموجي بالسنتمتر ويسمى **العدد الموجي** اذ ان العدد الموجي يتناسب مع التردد والطاقة.

مطياف الأشعة تحت الحمراء

مطيافية الأشعة تحت الحمراء أو علم الأطياف ما تحت الحمراء Infrared spectroscopy هو أحد فروع علم الأطياف الذي يتعامل مع المنطقة تحت الحمراء من الطيف الكهرومغناطيسي. ويشمل مجموعة من التقنيات، وأشهرها مطيافية الامتصاص (Absorption spectroscopy) يمكن استعمال المطيافية، كما هي الحال مع جميع أنواع المطيافيات، في تحديد هوية المركبات. ويمكن الاطلاع على جدول الارتباط لمطيافية الأشعة تحت الحمراء.

ويدرس علم الأطياف ما تحت الحمراء تفاعل المادة نتيجة الأشعة تحت الحمراء. تستخدم الموجات الكهرومغناطيسية ذات طول الموجة بين الحدود المرئية للضوء وهي بحدود 800 نانومتر حتى أقصر الموجات الدقيقة حوالي 1 ميليمتر. تستخدم عادة وحدة رقم الموجات (التذبذبات في السنتمتر، تقرأ بمقلوب السنتمتر)، وهذا يساوي ($110 - 12500cm^{-1}$)، يتكون الضوء من أشعة هي عبارة عن موجات كهرومغناطيسية (electromagnetic radiation)، وكل هذه الموجات لها نفس السرعة وهي سرعة الضوء (speed of light) يرمز له بـ(s)، ولكل موجة طول موجي (wavelength) يرمز له بـ(λ)، وكذلك لها تردد (frequency) يرمز بـ (f)، وهناك علاقة بينها كالاتي:

$$S = (f) \times (\lambda)$$

s: سرعة الضوء، f: تردد الموجة، λ : طول موجي

والأشعة تحت الحمراء تتبع الضوء المرئي مباشرة ولها أطوال موجة أكبر من الضوء المرئي لذلك فإن أطوال الموجة التي غالباً تدرس للمركبات يتراوح بين $400cm^{1-}$ إلى cm^{1-} 4000 .

واذ ان الأشعة تحت الحمراء ليس لها طاقة عالية، فإنها لا تؤثر على حركة الالكترونات في الذرات، ولكن يمكن أن يحدث لها امتصاص نتيجة الاهتزازات (vibration)، أو الدوران (rotation) في المركبات، ولكي يحدث هذا الامتصاص لابد أن يحدث في المركب تغير في ثنائية الاستقطاب (dipole moment) للمركب. فاذا تصادف أن الشعاع له نفس طاقة التردد مثل طاقة الاهتزاز أو الدوران للمركبات فانه يحدث له امتصاص.

وتعتبر الامتصاصات التي تكون نتيجة الدوران قليلة الاهمية خصوصاً للسوائل أو المواد الصلبة ولكن لها استخدامات للغازات، في حين أن الامتصاصات الناتجة عن الاهتزازات هي الأكثر أهمية، والجهاز المستخدم لدراسة مطياف الأشعة تحت الحمراء (IR spectrometer) هو جهاز بسيط، مكوناته الاساسية هي مصدر للأشعة تحت الحمراء (IR source) وحامل للعينة (Sample holder) ومكشاف (detector). وعند الحصول على الطيف للمركب فانه يكون خاص بذلك المركب أي مثل الصورة أو البصمة الخاصة بذلك المركب.

جدول (12–1) يبين الجدول مناطق الأشعة تحت الحمراء القريبة والمتوسطة والبعيدة وعادة ما تستخدم منطقة الأشعة المتوسطة middle في اجهزة الأشعة تحت الحمراء.

جدول (11– 1) مناطق ما تحت الحمراء

Region	**Wavelength range** (nm)	**Wavenumber range** (cm^{-1})
Near	0. 78- 2. 5	12800- 4000
Middle	2. 5- 50	4000- 200
Far	50 - 1000	200- 10

الوحدة المستخدمة في أطياف IR هي العدد الموجي (Wave number)، وهي وحدة تتناسب مع التردد وتساوي عدد الموجات في 1 سم.

ويرتبط امتصاص الأشعة تحت الحمراء باستحداث نقلة اهتزازية في الجزيئات وذلك من خلال إثارة إلكترونية في معظم المركبات العضوية، وتكون هذه الإثارة كافية لإحداث اهتزازات امتصاص وانثناء في الروابط. وجميع أنواع الروابط في المركبات العضوية تحدث فيها اهتزازات فلذلك تمتص في منطقة الضوء تحت الأحمر بشرط أن يؤدي الامتصاص إلى تغير في العزم القطبي، وهو ما يتحقق في الكثير من المركبات.

- كيف تحدث هذه الاهتزازات؟

كل مستوى طاقة الكتروني يرتبط بعدد معين من مستويات الطاقة الاهتزازية في الجزيء وترتبط هذه الاهتزازات بالروابط الكيميائية في الجزيء وينظر إلى كل رابطة في الجزيء وكأنها نابض حلزوني يرتبط بثقلين ويهتز الثقلان بشكل مستمر فمثلاً قد تستطيل الرابطة ثم تعود إلى الانكماش.

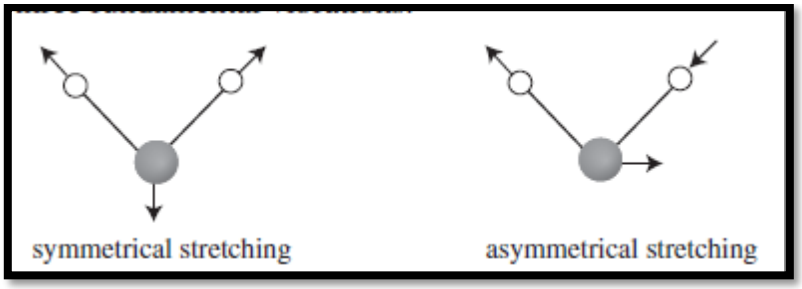
- أنواع الاهتزازات:

هناك أنواع متعددة للاهتزازات ومنها على سبيل المثال:

1. **الاستطالة** " stretching".

a- استطالة متناظرة Symmetrical stretching.

b- استطالة غير متناظرة Antisymmetrical stretching.

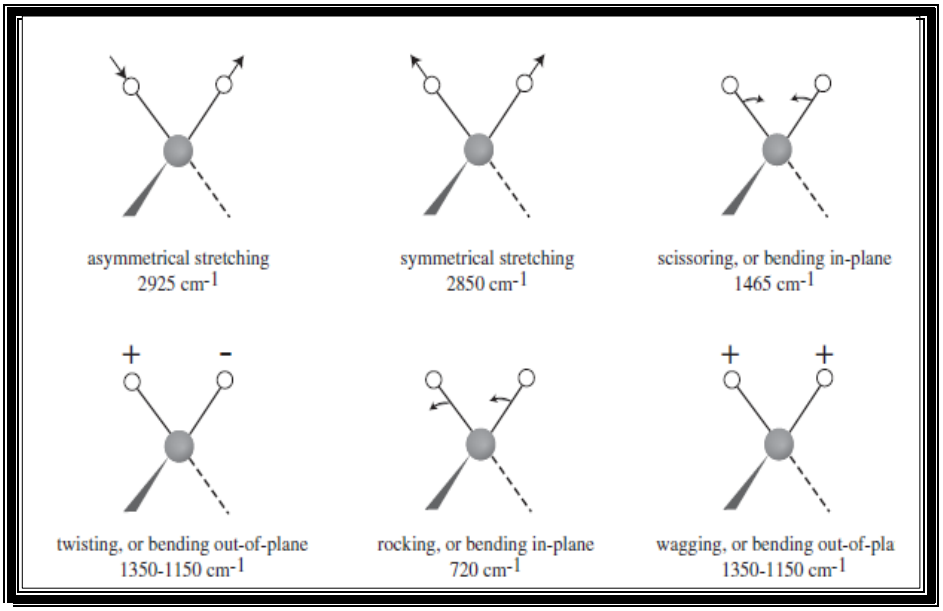


شكل (11-1) يبين استطالة الاصرة عند امتصاص الأشعة تحت الحمراء

2. **الانثناء " Bending "**

وهناك أربعة أنواع منها:

1. الروك " Rocking"
2. الهز " Wagging "
3. الالتواء " Twisting "
4. القصقصة " Scissoring "



شكل (11- 2) يبين اهتزازات الاستطالة والانثناء الناتجة من امتصاص الأشعة تحت الحمراء.

ومن خلال الاشكال (11– 1،2) نلاحظ أنماطاً للاهتزازات:

–اهتزازات الروابط التي تصل الذرات الأخف تقع عند ترددات أعلى من تلك التي تصل ذرات أثقل.

–اهتزازات الامتطاط تحتاج إلى طاقة أكبر "تردد أعلى" مما تحتاجه اهتزازات الثني.

– أن تردد الروابط الثنائية أكبر من تردد الروابط الأحادية مع وجود نفس الذرات.

– وكلما زاد تركيب الجزيء تعقيداً كلما زادت عدد حزم الامتصاص في رسمة الطيفي الأمر الذي يجعل نسبة بعض حزم الامتصاص إلى روابط معينة أمراً بالغ الصعوبة، ولكن ظهور حزم معينة في نسق معين في المنطقة ما بين (715 –1500) تقريباً، وهي المنطقة التي تسمى "**منطقة البصمة** "finger print region يشكل دليلاً تشخيصياً على ماهية المركب. وسُميت بهذا الاسم وذلك تشبيها ببصمات الأصابع التي تميّز الشخص عن غيرة. فإذا وضع طيفان أحدهما لمركب معروف والأخر لعينة مجهولة، ووجد أنهما يتطابقان في هذه المنطقة فبالتأكيد ستكون لمركب واحد، ذلك انه لا يوجد مركبان يتطابق فيهما طيفا IR دون أي فروقات.

قانون هوك Hooke's Law

ان ابسط الجزيئات هي الجزيئات ثنائية الذرة، اذ تتكون من ذرتين تربط بينهما أصرة كيميائية وتهتزان على طول المحورالبيني للنواتين inter nuclear axis وللتقريب يمكن إن نتخيل إن كتل النواتين هما m_1 وm_2 على التوالي والآصرة بينهما تمثل نابض حلزوني عديم الكتلة تهتزان توافقيا نسبة إلى مركز الكتلة ووفقا لقانون هوك فان القوة المعيدة فيها هي:

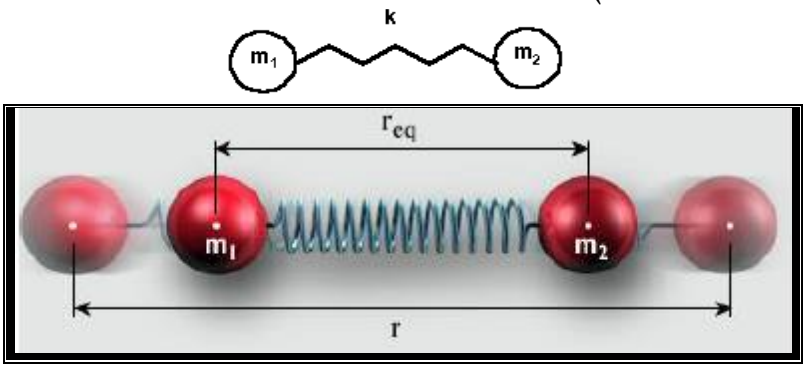
$(f = -kx)$

اذ ان k: ثابت القوة، x الإزاحة عن مركز الكتلة، $x = r$.

r_{eq} (طول الآصرة المستقرة).

إن كلا الكتلتين يمكن إن تنتقلا معا ككتلة واحدة فعالة.

(μ): (effective mass) الكتلة الفعالة .



شكل (11– 3) استطالة الرابطة بين الذرتين نتيجة امتصاص الأشعة تحت الحمراء.

$$\upsilon = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad HZ$$

$$\upsilon^{-} = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{K}{\mu}} \quad cm^{-1}$$

$$\mu = \frac{m_1 . m_2}{m_1 + m_2}$$

μ= reduced mass

m_1: الكتلة الاولى، m_2: الكتلة الثانية، μ: الكتله المختزله.

K: ثابت القوة (Force Constant) والذي يعكس صلابة النابض الحلزوني بين الكتلتين m_1 m_2

يرجع افضلية انتقال امتصاص الجزيئات والذرات في المنطقة تحت الحمراء عن امتصاصها في منطقة فوق البنفسجية والمرئية إلى سببين:-

1. لا يوجد سبكتروفوتوميتر يتمكن من قياس IR, VIS, UV في منظومة واحدة متكاملة.

2. ان ميكانيكية امتصاص من أشعة VIS, UV تختلف عن ميكانيكية امتصاص IR من قبل الجزيئة. مثلا نلاحظ ان عدد قمم اطياف VIS, UV لا تزيد عن3 الى 4 قمم لكل مادة مذابة بينما تكون قمم اطياف أشعة IR تكون حادة وكثيرة العدد.

ان أشعة VIS, UV عندما تسقط على المادة تعاني اطياف المادة توسع في قمتها ويؤدي إلى تلاحم تلك القمم وقلة عددها لانها تلاحمت. أو نقول ان UV, VIS قليلة العدد وعريضة. بينما في IR تكون كثيرة وحادة وذلك لان لا يوجد تفاعل بين جزيئات المذاب ويؤدي إلى توسع القمم، بينما في VIS, UV يوجد تفاعل فتعرض القمة. في IR الانتقالات لا تؤثر بالمذيب فتحافظ على حدتها وعددها.

وفي IR تتبع الامتصاصات الشروط الاتية:-

1. ان المادة لا تمتص أشعة IR ما لم يكون لها القابلية على تغيير الحركة والطاقة الالكترونية والاهتزازية والدورانية.

2. ان التغير في الطاقة الاهتزازية والدورانية يجب ان يغير العزم الازدواجي للاصرة التساهمية التي تربط ذرة باخرى (الاصرة التساهمية تتمثل بالكترونات π) اما الجزيئات التي ليس لها القابلية على ذلك (الجزيئات المتماثلة في التركيب والثنائي الذرة مثل غازات H_2، H- H، O- O، N- H فان IR لا تغير من العزم الازدواجي للاصرة لذلك لا يحدث امتصاص. اي تمتص IR في حالة تحول الجزيئة إلى دايبول (ثنائي القطب) اي إلى جهة موجبة واخرى سالبة

فتتغير الطاقة الاهتزازية والدورانية.

مثال: كيف تحسب ذبذبة أو قمة الامتصاص أو المقدار الرئيسي للاصرة؟

ج/ من معادلة oscillation harmonic equation اي قانون هوك Hooke's Law

$$\upsilon = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{K}{M}}$$ عدد الذبذبات تردد الاهتزاز

OH للاصرة $K=7.7\times10^{-5}$ cm/degree ، m= 0. 941 ،3.14 =π

m = الكتلة المختزلة للذرتين، K = ثابت القوة ويعبر عن قوة الاصرة في حالتها الاتزانية ووحداته (داين/سم).

$$\upsilon = \frac{1}{2 \times 3.14} \sqrt{\frac{7.7 \times 10^{-5}}{0.941 \times \frac{1.67 \times 10^{-24}}{wt\ of\ H2O}}}$$

$\upsilon = 1.11 \times 10^{14}$ تردد القمة أو تردد المجموعة (أو تردد امتصاص الاصرة).

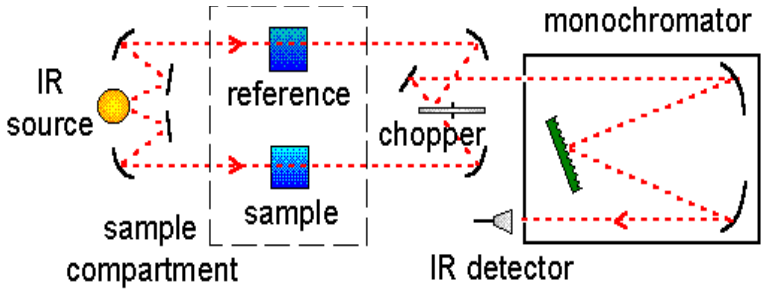
ومن قيم K يمكن التمييز بين المجاميع اي تحليل المجاميع نوعيا باستخدام المعادلة السابقة الذكر (اي التحليل النوعي) ويمكن ان نحول التردد إلى العدد الموجي لانه يفضل التعبير بالعدد الموجي.

$$\acute{\upsilon} = \frac{\upsilon}{3 \times 10^{10} cm} = 3700 cm^{-1}$$

$$\acute{\upsilon} = 1307 \sqrt{\frac{K}{m}}$$

قانون هوك بعد اجراء التعديلات.

ويمكن حساب $\acute{\upsilon}$ لكل من C -C، C=C، C≡C بعد ان نجد كل من K و m وυ.



شكل (11– 4) مخطط يوضح مسار الأشعة تحت الحمراء في مطياف الأشعة تحت الحمراء

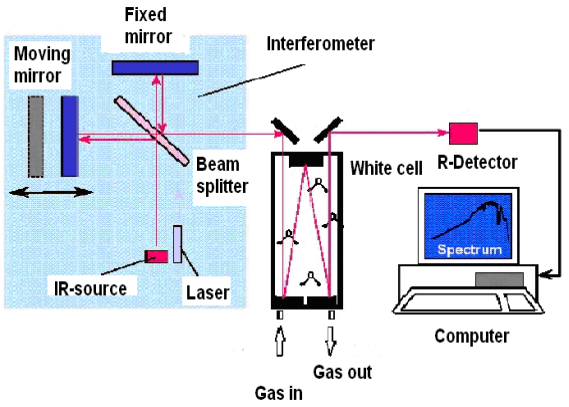
مطياف الأشعة تحت الحمراء المزود بمحول فوريية:

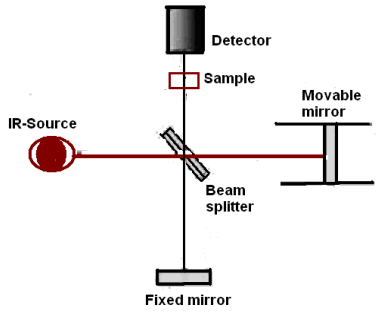
Fourier Transform Infrared (FT- IR) Spectrometry

يختلف مطياف الأشعة تحت الحمراء المزود بمحول فوريية FT– IR عن مطياف الأشعة تحت الحمراء العادي Regular IR فيما يلي:

- مصدر الطاقة في مطياف FT– IR يكون LASER Monochromatic source
- لا يحتوي مطياف FT– IR على موحد للموجات mono Chromates وعلى ذلك فان الشعاع الساقط يحتوي على كل أطوال موجات الأشعة تحت الحمراء المتوسطة المدى $5000 - 400\ cm^{-1}$.
- الجهاز مزود بمحول Analog to digital converter لكي يسهل دمجه مع أجهزة التحليل الكروماتوجرافي GC- FTIR or HPLC- FTIR.
- يتميز جهاز FT- IR spectrometer بأنه يقوم بتحليل العينات الصغيرة الحجم وبدرجة أسرع وأدق من الجهاز العادي.
- يعطي درجة تمييز (تحليل) عالية جداً very high resolution.

وينقسم الشعاع الساقط إلى حزمتين بواسطة Beam splitter كما في شكل (11–5)، الحزمة الأولى لها طول موجة ثابت fixed wavelength وتوجه إلى المرآة الثابتة، أما الحزمة الثانية لها طول موجة متغير variable wavelength وتوجه إلى المرآة المتحركة movable mirror.

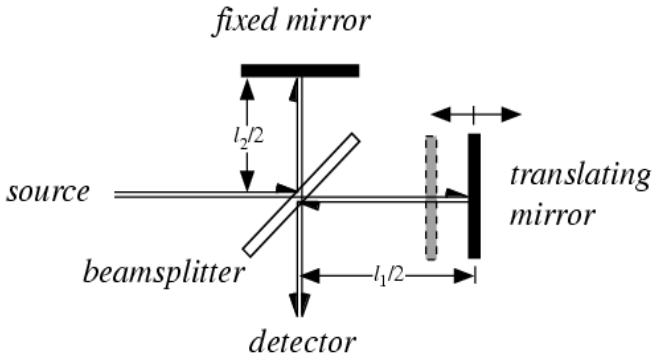




شكل (11- 5) يبين الشكل مسار الأشعة في مطياف FT- IR

مطياف القياس التداخلي Interferometric spectrophotometer

ويتكون هذا المقياس الذي يستند على فكرة قياس الاطياف ذات الترددات بواسطة التداخل الطيفي وباستخدام مقياس التداخل الطيفي الذي يتألف من مصباح أو مصدر طيفي عدسة نصف كروية ومنصف للاشعاع beam splitter ويرسم المقياس محفظ يسمى محفظ التداخل ويتألف من رسم العلاقة بين (f) frequency & Time (sec).

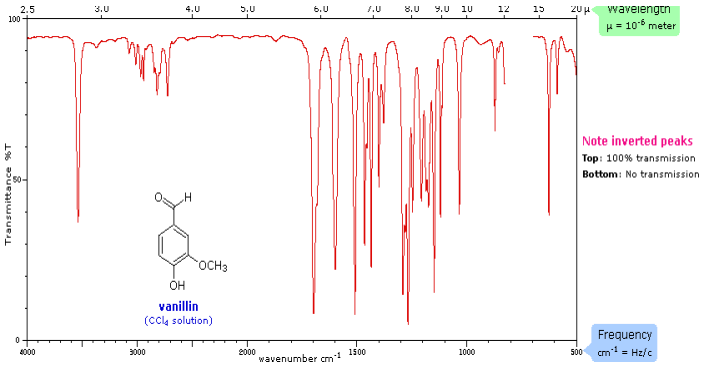


شكل (11- 6) مطياف القياس التداخلي

فائدة الطيف التداخلي

نحوله إلى طريقة رياضية وفي عدة الحاسوب إلى طيف امتصاص ما تحت الحمراء وهذه الطريقة تسمى Fourier Transform Infrared (FTIR) وهذه الطريقة تزيد من حساسية التحليل، اذ ان كل الاطياف الصادرة من المصباح تمرر كليا من خلال العينة وليس طول موجي معين كما هو في IR فقط فكلما كانت تركيز العينة قليلة فيظهر امتصاص ما تحت الحمراء بصورة واضحة وشدة عالية. طيف التداخل لا يستخدم موحد

لون بل تسقط كل الاطياف الصادرة من المصباح على العينة ويستخدم قياس فورية ايضا في قياسات ما تحت الحمراء البعيدة.



شكل (11 – 7) طيف الأشعة تحت الحمراء لنموذج الفانالين

- تنطبق طريقة فورير على التحليل الطيفي وباقي التحاليل الاخرى كهربائية – حرارية كهربائية والتصحيح هذا يساعد على حساسية الطيف اي لا يحصل تداخل طيفي وبامكان تسجيل طيف التداخل. والطريقة الاعتيادية لا تشمل الترددات العالية وبدون الطريقة التداخلية لا يمكن قياس ترددات ما تحت الحمراء.

المعايرة والتقييس:

نظرا لتردي اداء IR Spectrophotometer بسبب تضبيب مراياه وتهرء اجزاءه الميكانيكية الذي بدورة يؤدي إلى تغير في تدريج الاطوال الموجية للجهاز وبالاتي النفاذية بالمئة لذا يجب ان يعاير أو يقيس بين فترة واخرى للتأكد من اداءة الامثل.

وهناك طريقتان لمعايرة جهاز IR:-

1. الطريقة الاولى وتتضمن ما يلي:-

a. استخدام محزوز ذو فسحة d (d spacing) معلومة.

b. استخدام موشور ذو معامل انكسار معلوم.

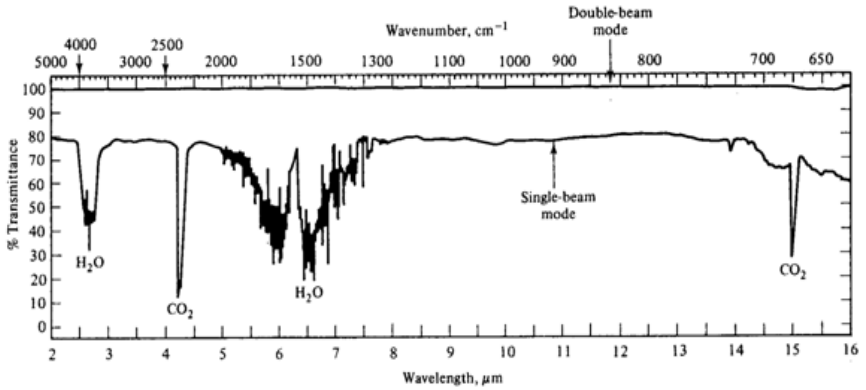
لكن هاتين الطريقتين صعبة التطبيق لذا نلجأ إلى الطريقة الاتية:-

2. الطريقة الكيمياوية: والتي تتضمن ما يلي:-

a. قياس طيف ما تحت الحمراء للهواء الاعتيادي وباستخدام اسلوب جهاز منفرد الشعاع ان مكونات الهواء H_2, N_2, O_2 لا تسجل لهم اطياف امتصاص ما تحت الحمراء لانها جزيئات متماثلة بينما الجزيئات التي تسجل لها اطياف هي O_2 وبخار الماء.

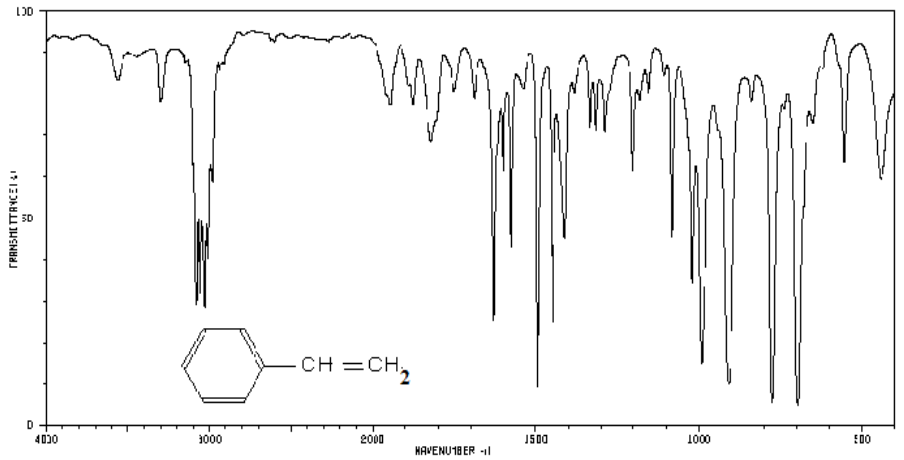
والهدف:- هو ان الجهاز عند تسجيل الاطياف الامتصاص في المناطق المحددة يكون الجهاز صالح للاستعمال اما اذا كان التسجيل خارج المنطقة المحددة للقياس معناة ان

الجهاز معطب. والجهاز هنا يعمل باسلوب منفرد الشعاع ولكن اذا استعملنا ثنائي الشعاع لا تسجل الامتصاصات لان الشعاع ينقسم إلى قسمين الاول إلى خلية العينة والاخر إلى محلول خلب (البلانك).



شكل (11- 8) طيف تحت الحمراء للهواء

b. استخدام ورق البولي ستايرين معروف طيف الامتصاصة فنضع القطعة في الجهاز المراد معايرته فيرسم الجهاز طيف ما تحت الحمراء ويقارن هذا الطيف مع طيف مأخوذ من جهاز حديث أو جديد أو غير معطوب. فاذا تطابق فان الجهاز غير معطوب وبعكسه يكون الجهاز معطوب ويجب اصلاحه.



شكل (11- 9) طيف الأشعة تحت الحمراء القياسي للستايرين

نوافذ الخلايا

جدول (11– 2) يبين المواد المستخدمة في صناعة نوافذ الخلايا المستخدمة في أجهزة امتصاص الـ IR

المادة المصنع منها نوافذ الخلايا	الطول الموجي للأشعة التي تمر بدون امتصاص
NaCl	40,000- 625 cm^{-1}
KBr	40,000- 400 cm^{-1}
AgCl	25,000- 435 cm^{-1}
Cesium bromide	10,000- 270 cm^{-1}
Cesium iodide	10,000- 200 cm^{-1}
Germanium	20,000- 600 cm^{-1}
Polyethylene	625- 33 cm^{-1}

ويلاحظ أن تعرض هذه المواد للرطوبة يؤدي إلى حدوث تغير في سطحها وتصبح غير قادرة على الامرار الضوئي لكل الأشعة ويكون من الضروري في هذه الحالة اعادة صقل وتلميع سطح هذه المواد لأن كلوريد الصوديوم على سبيل المثال يذوب في الماء وبالتالي أي آثار للرطوبة في العينات تسبب تآكل في بلورات كلوريد الصوديوم.

أما بالنسبة للعينات المائية والتي لا يمكن معها استخدام بلورات كلوريد الصوديوم أو البلورات الأخرى التي تتأثر بالماء فيمكن أن تستخدم النوافذ المصنوعة من كلوريد الفضة اذ انه لا يتأثر بالماء.

تحضير العينات وأنواع الخلايا المستعملة:

يستعمل طيف إمتصاص الأشعة تحت الحمراء لتعيين هوية المركبات الصلبة والسائلة والغازية ومن الطبيعي أن تعامل العينات بطرق مختلفة تتناسب مع حالة كل منها.

• في العينات الصلبة تسحق ثم تجعل على شكل عجينة مع مادة سائلة عالية اللزوجة مثل زيت البرافين النيوجل (Nujol) أو شحم كلوروفلوروكربون ثم توضع كمية بسيطة من هذه العجينة بين قرصين من بروميد البوتاسيوم أو كلوريد الصوديوم لتكون طبقة رقيقة جداً.

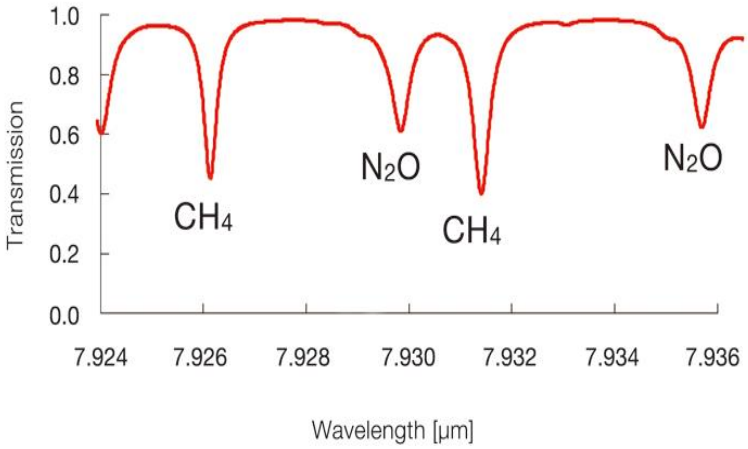
• في العينات السائلة فأبسطها هي التي يمكن أن توضع مباشرة في خلية من كلوريد الصوديوم أو بروميد البوتاسيوم أو بروميد الثوريوم ثم يسجل طيف إمتصاص الأشعة تحت الحمراء للمادة المراد دراستها. وفي الجهاز ثنائي الشعاع تستعمل خلية مماثلة تحوي على مادة قياسية (reference material) كالمذيب مثلاً. وينبغي حماية الخلايا من الرطوبة كما ينبغي تجفيف المذيبات العضوية قبل إستعمالها لأن وجود كميات قليلة من الماء تؤثر

على جدار الخلية مما ينتج عليه أخطاء كبيرة وهذه الطريقة مناسبة للتحاليل النوعية والكمية. كما يمكن وضع قطرة من العينة بين قرصين من بروميد البوتسيوم أو كلوريد الصوديوم لتكون طبقة رقيقة جداً ويسجل الطيف لها. ولكن هذه الطريقة لا تصلح إذا كانت المادة سريعة التبخر كما أنها لا تصلح للتحليل.

شكل (11- 10) يبين الشكل النموذج السائل ووضعة على خلية بروميد البوتاسيوم

• في العينات الغازية توضع في خلايا كبيرة غالباً ما يكون طولها 10سم وتصنع نهاياتها من كلوريد الصوديوم أو بروميد البوتاسيوم.

شكل (11- 11) خلية النموذج الغازي



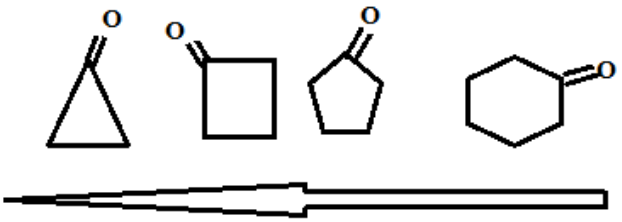
شكل (11- 12) طيف الأشعة تحت الحمراء لنموذج غازي

العوامل المؤثرة على ترددات واهتزازات المجموعة الفعالة

1. الرنين/ يقلل من رتبة الاصرة للاواصر المزدوجة وترددتها الاهتزازية بحوالي $30cm^{-1}$ ويدعى هذا الانخفاض (بالزحف اللوني الواطيء) Bathochromic shift الا انه في نفس الوقت يزيدها بالنسبة للاصرة المفردة ويدعى بالزحف اللوني العالي Hypochromic shift.

2. الاصرة الهيدروجينية/ (N- H, O- H, C- H) تتميز هذه الاواصر بوجود تردد اهتزازي اوحزمة امتصاصية $3300cm^{-1}$ وهي تمثل الاهتزاز لاستطالة الاصرة الهيدروجين (wagging) ان حزمة الامتصاص تعتمد على درجة الارتباط (H) في كل من N- H, O- H, C- H مثلا ان كل من طاقة وثابت الاصرة (اي ثابت القوة) الهيدروجينية ينخفض ففي الكحولات مثلا يصبح الانخفاض $200cm^{-1}$، من جهة اخرى فان الاهتزاز المطي لاصرة C=O كاربونيل المركب مذاب في مذيب غير قطبي بمنخفض عن اذتبته في مذيب هيدروكسيلي (قطبي) كما ان قيمة حزمة الامتصاص تختلف بالنسبة لهذه المجموعة عندما تكون آصرة بينية هيدروجينية (dimer) أو عندما تكون المجموعة الكاربوكسيلية استر يتأثر جذرة السالب بالرنين الذي يجعل كل من ذرتي الاوكسجين إلى ذرتين متكافئتين وبذا تتغير ميزة الاصرة المزدوجة C=O فهي تختلف في الكيتون وفي الحامض الاحادي الكاربوكسيل وفي الملح المتناظر والملح غير المتناظر وفي الاسترات.

3. تأثير الحلقة/ كلما كان مط الحلقة اقل كلما كانت قيمة C=O اكثر.



يزداد تأثير مط الحلقة

4. تأثير فتحة المونوكروميتر ومعدل المسح الطيفي.

ملاحظة: لا يوجد مركبات لهما نفس اطياف امتصاص ما تحت الحمراء، وتستعمل هذه الصفة للتمييز بين مركبات مختلفة عن طريق رسم الاطياف، فالمتشابهة تعطي نفس الطيف الامتصاصي والمختلفة تعطي اطياف مختلفة إلا في حالات مختلفة مثل المركبات $CH_3(CH_2)_nCH_3$ اذ ان قيمة n تتراوح بين 15– 17 وان مجموعة المثلين المضافة لا تعطي اي حزمة غير موجودة اصلاً باعداد كبيرة كما انها لا تغير الشكل الهندسي للجزيئة.

وتقسم تحت الحمراء IR ذات الاهمية التحليلية إلى قسمين:-

1. منطقة تردد المجموعة: ذات اطوال موجية تتراوح بين 2.5– 80um وان ظهور القمم في هذه المنطقة يعود إلى المجاميع الفعالة.

2. منطقة طبع الاصابع Finger print regin ذات اطوال موجية 8.0– 15um وتشير هذه إلى وجود جزيئة او مركب ككل.

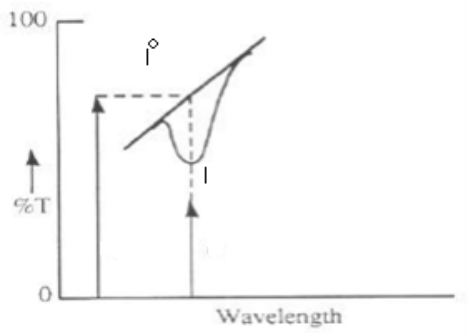
ويستفاد من هاتين المنطقتين لاجزاء التحليل النوعي لاطياف ما تحت الحمراء ويتم ذلك بتسجيل طيف الامتصاص ما تحت الحمراء وتحدد المناطق التي من خلالها يشير وجود المجموعة ضمن 2.5- 8.0um وتحدد المنطقة 8-15um إلى وجود جزيئة أو مركب وهذا يستعمل للتحليل النوعي.

التحليل الكمي باطياف ما تحت الحمراء

التحليل الكمي بطريقة خط الاساس: تتضمن هذه الطريقة انتقاء قمة اهتزازية من بين القمم التي يسجلها الجهاز p_0، p يقاس بالمسطرة من الرسم البياني:

$$A = log\frac{p_0}{p} = abc$$

$$\therefore A \sim \pi r^2$$



شكل (11 – 13) قياس p و p_0

للتأكد من صحة العمل يتم اختيار قمة اخرى ونجري نفس الحل فتحصل على نتائج A وC متقاربة.

كيف يمكن اجراء التحليل:

1. المادة الغازية: يتم استعمال خلية بطول 10cm وتحوي الخلية مرايا عاكسة وتملأ الخلية بالغاز المراد تحليله فيتم تمرير شعاع بقوة P_0 ويخرج الشعاع بقوة P ويسجل هذا بشكل طيف امتصاص، وان سبب استعمال المرايا هو ان المرايا تسبب عكس اطياف ما تحت الحمراء وهذا يؤدي إلى زيادة الطول والمسفة التي يقطعها اكثر فالامتصاصية تكون اكثر والحساسية افضل.

2. المادة السائلة: نأخذ جزء منه ونضعة في خلية سمكها b ويكون صغير والسبب لان اذا كان كبير فالامتصاصية تزداد والقمم تكون معقدة وغير واضحة ولكن السمك الصغير نحصل على قمم متباعدة وحادة ويمكن الاعتماد عليها باجراء التحليل ويكون السمك حوالي 0.5 nm –005. فنحصل على اطياف واضحة او نأخذ قليل من السائل ويتم اذابته بمذيب ملائم اي التخفيف ولكن توجد عقبتين هما:–

a. اختيار المذيب المناسب.

b. سمك b يجب ان يكون المذيب خالي من الاواصر الهيدروجينية مثل CCl_4 وH_2O يكون شفاف بطول موجي 1335-1400cm^{-1} و350-400cm^{-1} وكذلك فلوروكاربون C_2F_2 يستخدم كمذيب وسبب ان يكون المذيب خالي من H لان الاواصر الهيدروجينية تتداخل في منطقة 3300. وفي قياسات IR لا يستخدم الماء لانه يحتوي على آصرة H. وكذلك لا يتم استخدام العينة وهي محتوية على الماء لان وجوده يسبب حدوث تداخل. والخلايا في اطياف IR مصنوعة من بلورات بعض الاملاح وليس الزجاج مثل بلورة KBr

وNaCl والبلورات يجب ان تكون جافة لذلك تحفظ في discater مع وجود السيليكا او اية مادة مجففة.

– كيفية قياس سمك b

استخدام مايكروميتر micrometer ويسمى المسماك لانه يقيس السمك. او استخدام الشراريب التداخلية ويشترط ان تكون الخلية ذات اوجة داخلية مصقولة.

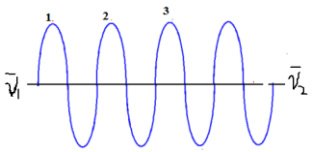
$\acute{\upsilon}$ =1430 cm^{-1} = 940 cm^{-1} $\acute{\upsilon}$

$$b = \frac{n}{2(\acute{\upsilon}_1 - \acute{\upsilon}_2)} = \frac{5}{2(1940 - 940)}$$

b= سمك الخلية

n= عدد الشراريب

$\acute{\upsilon}_1$، $_2\acute{\upsilon}$ عدد موجة



في حالة عدم توازي السطحين الداخليتين

نلجأ إلى مليء الخلية بمركب البنزين λ_{max} = 850 cm^{-1}

ويتم تثبيت العدد الموجي للجهاز ونقيس ممتصية البنزين ولنفرض A= 0.22 وهذه تحت نفس الظروف لتكافيء 0.1 nm.

A	b
0.22	0.1nm
0.44	0.2

تحضير النماذج للتحليل بأطياف امتصاص تحت الحمراء IR

1. الغازية
2. السائلة
3. الصلبة وتعامل بثلاث طرق:-

1. طريقة القرص disck method اذ يمزج 1- 5 ملغم من مسحوق المركب والعينة مع 0.5gm اما بروميد البوتاسيوم او يوديد البوتاسيوم اوبروميد السيزيوم وتكون جافة وخالية من الرطوبة ويتم طحن الجميع بهاون عقيقي ثم ياخذ جزء قليل من هذا المزيج ويوضع في قالب صغير اسطواني الشكل مصنوع من الفولاذ ويكبس جيدا بواسطة مكبس هيدروليكي حوالي 10 طن وبعد الكبس نحصل على قرص صغير قطرة 1سم وارتفاعه 0.5mm وشفاف وخالي من الكسور ويوضع القرص في جهاز الأشعة تحت الحمراء ويسجل طيف امتصاص ثم يحسب تركيز المادة اوالعينة.

2. طريقة السحن Mull Method

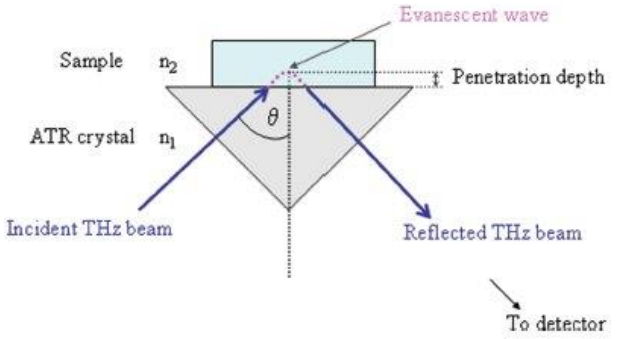
وتتضمن هذه الطريقة مزج بضع ملغرامات من مسحوق العينة مع 10 امثالها من زيت معدني هيدروكاربوني يسمى Nujel وذلك في هاون عقيقي لكي يتجانس المزيج بعدها تؤخذ بضع قطرات من المسحوق الناتج وتوضع على احدى صفحتي الخلية الملحية اي مصنوعة من بلورة NaCl ثم نظيف الصفيحة الثانية عليها ونحرك الصفحتان بحيث ينتشر المسحوق على كامل سطح الخلية وتظهر بشكل طبقة بنية شفافة.

نؤخذ الخلية هذه وتوضع IR spectrophotometer ويسجل طيف الامتصاص ما تحت الحمراء ويقارن هذا الطيف باطياف ما تحت الحمراء المتواجدة في الاطلس لغرض التعرف على مجاميع الفعالة والجزيئة لكل المركب كما يستفاد من هذا الطيف في التحليل الكمي للمجاميع الفعالة وللمركب ككل. هناك نقص في الطريقة كون الـ Nujel يعطي امتصاصات تعود إلى آصرة C– H) H) اي يعطي امتصاصات نفسة في المنطقة (6.9– 7.2– 3.5) um فيجب الحذر من هذه المناطق ولتجنب ذلك استبدال زيت الـ Nujol بزيت آخر يسمى Fluoro Lube يحتوي على آصرة (C– F).

3. طريقة الملغم: اي ترسيب بالتسامي طبقة رقيقة من العينة على سطح الخلية الملحية. ونأخذها إلى جهاز IR ونسجل طيف امتصاص IR للعينة.

4. طريقة الانعكاس الكلي المتباطيء Attenuated Total Reflection ATR: وهي طريقة تستخدم للعينات الصلبة، اذ يتم اسقاط شعاع IR على موشور (قوة الشعاع P_0) ملحي على احد اوجة العينة المراد تحليلها فهذا الطيف سوف يخترق الموشور ويلامس سطح العينة ويحصل امتصاص وما تبقى من IR سوف ينعكس بقوة اقل (P) شكل (11– 14). وتشترط الطريقة وجود فرق كبير في معامل انكسار الموشور والعينة مع استخدام موشور ملحي وليس زجاجي بسبب ان الاملاح لا تمتص IR في مناطق متعددة وان الموشور الزجاجي يمتص الـ IR.

$$log \frac{P_0}{P} = A = abc$$



شكل (11- 14) طريقة الانعكاس الكلي المتباطيء

سبكتروفوتومترات ما تحت الحمراء

تختلف اجهزة طيف تحت الحمراء عن اجهزة طيف UV/VIS بما يلي:-

المواد البصرية: اذ تصنع المواد البصرية (المنظومة البصرية) من مرايا فلزية، اما العدسات الزجاجية فلا تستخدم لكونها تسبب انحرافات لونية لأشعة IR وكل المواشير او المحزوزات او خلايا العينة او خلايا محلول الخلب كلها تصنع من بلورات الاملاح لذلك لا يجوز استخدام الماء كمذيب للعينة لان الماء يذوب الخلايا الملحية، كما ان ذلك (المواشير – المحزوزات – الخلايا الملحية) يجب ان تحفظ في جو خال من الرطوبة.

مصادر اطياف ما تحت الحمراء

1. يعتبر المصدر Nernst Glower نيرنست كلوار من احسن مصادر ما تحت الحمراء ذات الاهمية التحليلية. ويتكون من قضيب اوانبوب مجوف بطول 2cm وقطر 1mm مصنوع من مزيج ملبد من اكاسيد Y, Th, Zr, Ce يربط هذا القضيب إلى دائرة كهربائية لتسخينة إلى درجة 1200^0 اذ ان وهجه يكون من اطياف ما تحت الحمراء يتراوح اطوالها (20um–1).

2. الكلوبار Glowbar: ويصنع من سلك يتكون لامن كاربيد السيليكون يربط إلى دائرة كهربائية لتسخينة إلى $1400C^0$ اذ ينتج وهجة اطياف IR في منطقة اكثر من 30um.

3. سلك النيكروم Nicherome: يصنع من سبيكة النيكروم ويسخن كهربائياً ليعطي وهجه اطياف IR ما تحت الحمراء القريبة 2.5 um –0.78.

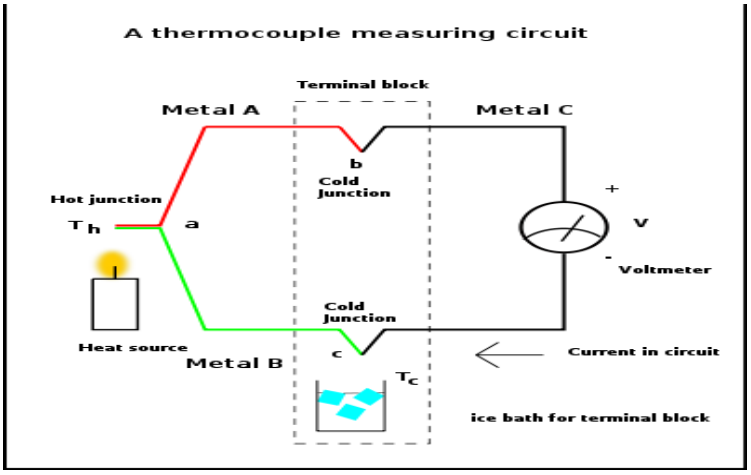
المكاشف المستخدمة للكشف عن اطياف IR Detectors

الكواشف المستخدمة تعتمد على الطاقة الحرارية التي تولدها اطياف ما تحت الحمراء عند سقوطها على المكشاف ولذلك المكاشيفس تقسم إلى قسمين:-

1. المكاشيف الحرارية
2. المكاشيف الالكترونية

المكاشيف الحرارية وتقسم إلى:-

a.المكاشيف المزدوجة حراريا Thermocoupled detector TCD وتتكون من سلكين نحيفين لفلزين مختلفان في الصفات الكهروحرارية ومربوطان بقطعة صغيرة من الذهب المسود، النهايتين الاخرى تربط بكلفانوميتر لقياس التيار المتولد عند سقوط شعاع IR بقوة معينة عن القطعة الذهبية والاطياف المقاسة بهذه الطريقة هي في المنطقة الوسطى وهي 2.5- 5 um.

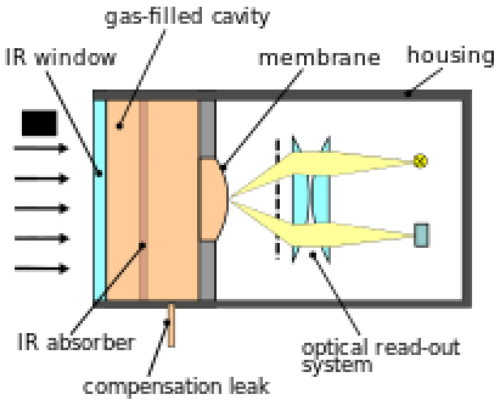


شكل (11 – 15) مكشاف المزدوج الحراري

b. المكشاف أو المحرار الاشعاعي Bolometer ويتكون من سلك من البلاتين بطول 5cm تقريبا اومن سلك من مادة تسمى Thermister يربط بدائرة كهربائية وتسلط عليها أشعة IR مجهولة الشدة ونتيجة الحث الحراري تتكون فولتية E، وهذا المحرار يقيس الاطوال الموجية IR في المنطقة الوسطى 7.5 um – 160nm.

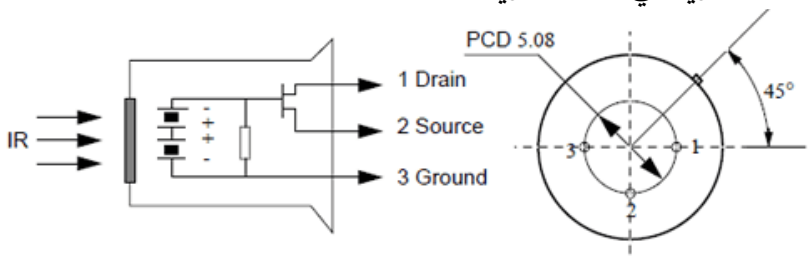
c. مكشاف خلية كولي Golay Detector وهو يقيس شدة اطياف IR ذات الاطوال الموجية التي تتراوح بين ما فوق البنفسجية البعيدة 160nm والمنطقة microwave احدى عيوبها انها كبيرة الحجم فلا تستخدم في الاجهزة وتتكون هذه الخلية من صندوق يحتوي

بداخلة غاز وفي احد جوانبة توجد مرآة محدبة تسقط شعاع IR خلال الشباك بقوة مجهولة وتوجد قطعة من الذهب المسود وتمتص حرارة IR فيسخن الغاز، اذ يتمدد وتخرج مرآة إلى الخارج وتتحرك حسب تمذوب الغاز وتتحرك بإتجاه PMT وتقيس شدة IR. ويوجد امام الشعاع المنعكس المكشاف الضوئي يحول الشعاع المنعكس إلى تيار كهربائي، وهذا التيار يتناسب مع شدة IR.



شكل (11- 16) كاشف كولي

d. المكشاف الكهروحراري اوالبايروحراري pyroelectronic detector يصنع هذا المكشاف من احدى بلورات كبريتات ثلاثي كلسرين Triglysrine sulphate اومن نيوبات الليثيوم $LiNbO_3$ او من تيتانات الباريوم $BaTiO_3$ يسقط الشعاع على البلورة ذو شدة مجهولة فيخترق السطح الاول وتنفذ إلى السطح الثاني، ما يتبقى من IR بشكل (P) ويتكون بين السطحين كهربائية هي E وهذا يتناسب مع شدة IR الساقط ويكون هذا المكشاف حساس ويعطي منطقة طويلة من IR كلفتها غالية الثمن.



شكل (11- 17) المكشاف الكهروحراري

- المكاشيف الالكترونية

وتتكون من انصاف او اشباة الموصلات الكهربائية مثل بلورات PbS، Ge(Hg) Ge(Cu) او غيرها وهذه المكاشيف تكون حساسة جداً اي استجلبتها سريعة لـ IR لكنها لا تعطي منطقة طويلة لـ IR وكونها تتحسس المناطق القريبة IR فلذلك تغطيتها لمنطقة IR قليلة بعكس المكاشيف الحرارية التي تعطي مناطق طويلة لـ IR لكن استجابتها لـIR غير سريعة.

اسئلة الفصل الحادي عشر

1-علل مايأتي:

a. تصنع خلايا ومواشير ومحززات ما تحت الحمراء من بلورات بعض الاملاح المناسبة.

b.القياس بتقنية FTIR افضل من القياس IR لوحدها.

c.ان طيف امتصاص IR افضل ميزة نوعية تحليلية للمركب.

d.استعمال المذيبات CCl_4 وCS_2 لتحليل العينات بطريقة IR.

e.استعمال ملح KBr في تهيئة العينات بطريقة IR.

f. تمتص جزيئة CO أشعة IR، ولا تمتص جزيئة N_2 هذه الأشعة.

2- قارن بين أطياف UV- Vis وأطياف IR.

3- لكل من طريقة القرص والعجينة (السحن) في تحليل الأشعة ما تحت الحمراء فوائد ونواقص (مثالب)، ناقش بإيجاز.

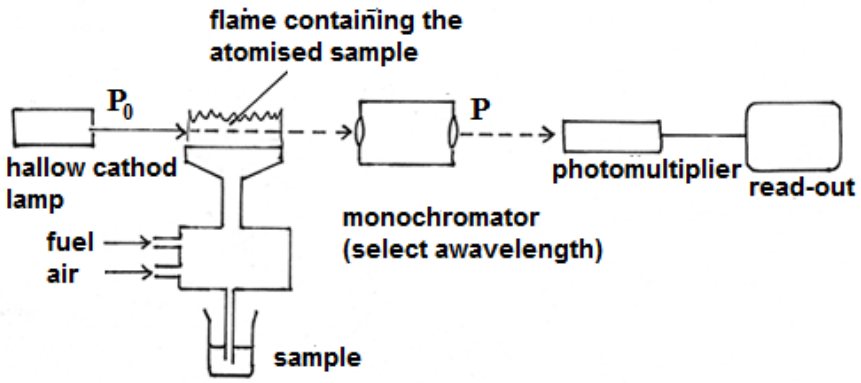
4- كيف تميز بين منطقة ترددات المجاميع ومنطقة بصمة الاصابع في تحاليل IR مستعينا بالرسم؟

5- تكلم عن العوامل المؤثرة على التردد في تحليل العينات بطريقة IR.

الفصل الثاني عشر
مطيافية الامتصاص الذري Atomic absorption spectroscopy

تحاليل الامتصاص الذري Atomic Absorption Analysis (AAA)

يمكن تعريفها بأنها تقنية تعتمد على امرار شعاع رنين الفلز خلال الغيمة الذرية لذلك الفلز وقياس شدة الطيف الرنيني النافذ من الغيمة. ان كل فلز له القابلية بعد تحويلة إلى ذرات طليقة متعادلة الشحنة لها القابلية على امتصاص جزء من شدة او قوة شعاع الرنين وان ذلك يتناسب طردياً مع عدد ذرات العنصر المكونة للغيمة في اللهب.



شكل (12- 1) مخطط لمسار الشعاع في جهاز الامتصاص الذري

ومما تجدر الإشارة إلية أن نسبة عدد الذرات المثارة إلى عدد الذرات غير المثارة يزداد بارتفاع درجة الحرارة مما يعني أن قياسات الامتصاص الذري يجب أن تتم في أوطأ درجة حرارة ممكنة لتقليل عدد الذرات المثارة على أن تؤدي هذه الدرجة الحرارية في نفس الوقت إلى تفكيك الجزيئات إلى ذراتها الحرة دون إثارتها كما يستدل من معادلة بولتزمان للتوزيع

$$N^*/N^0 = Ae^{-E/KT}$$

اذ ان:

N^* = عدد الذرات المثارة، N^0 = عدد الذرات المستقرة

A = ثابت خاص يعتمد على الأوزان الإحصائية في الحالتين وعلى الطاقة التنشيطية للذرات ولكل عنصر

E = الطاقة اللازمة للإثارة

K = ثابت بولتزمان ويساوي 1.3805×10^{-16} erg/deg

وقد وجد أن نسبة عدد الذرات المثارة إلى عدد الذرات المستقرة قليل جدا حتى في درجة حرارة 3000^oK، مما يعني أن تأثيرها في قياسات الامتصاص الذري ضئيل لذلك يفضل

الحفاظ على درجة الحرارة أعلى بقليل من الدرجات الحرارية اللازمة لتفكيك الجزيئات إلى ذراتها الحرة للأسباب الآتية:-

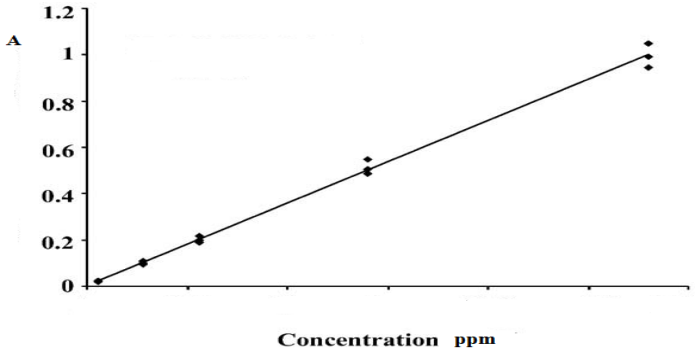
1. ازدياد عرض حزم الامتصاص بارتفاع درجة الحرارة.
2. إن ارتفاع درجة الحرارة أكثر من درجة التفكيك بكثير سيسبب تأين الذرات وهو أمر غير مرغوب به لان الذرات المتعادلة في حالة الاستقرار هي الوحيدة التي تمتص في الطول الموجي المطلوب.

فعند تحضير محاليل قياسية من NaCl مختلفة التراكيز ثم رذذنا المحاليل باللهب وثم قياس A بعد كل ترذيذ لكل محلول يمكن ان نحصل على العلاقة الاتية:

$$log\frac{P_0}{P} = A = abc$$

A ~ C

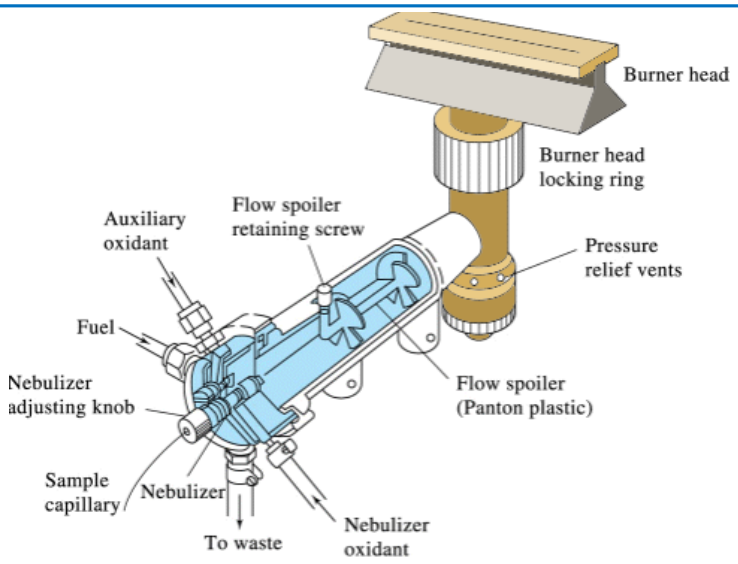
في تحاليل الامتصاص الذري تشترط تكوين غيمة ذرية للفلز فيها الذرات طليقة ومتعادلة الشحنة لان هذه الذرات فقط لها القابلية على امتصاص شعاع رنينها الآتي من مصباح الكاثود المجوف ونقيس الممتصية عن طريق الجهاز نفسة



شكل (12- 2) المنحني القياسي بين الامتصاصية بجهاز AAS والتركيز C

الترذيذ Aspiraion or Nebulization

يعني تحويل المحلول إلى رذاذ أو قطيرات صغيرة جدا بمساعدة جهاز المرذاذ Nebulizer، ويتم مزج المحلول مع الهواء ومع الوقود ويتحول إلى رذاذ ويصل إلى اللهب ويحترق ويكون الغيمة الذرية للعنصر.



شكل (12- 3) المرذاذ

التذرية Atomization:-

اي تحويل العنصر أو الفلز إلى ذرات طليقة ومتعادلة الشحنة، ان هذه الذرات فقط لها القابلية على امتصاص شعاع رنينها ولا يمتص شعاع رنين لعنصر آخر. فهذا التحليل يسمى تحليل نوعي أو خصوصي Specific اي ممكن تحليل عنصر بوجود عناصر موجودة في نفس المحلول دون تداخل من هذه العناصر اي لا تتدخل ولا تؤثر على النتيجة. وان عدد ذرات المتكونة في المحيط الحراري كاللهب مثلا يتوقف على ومنها اهمها درجة الحرارة لذلك اللهب.

منتج اللهب:- من تفاعل الوقود مع المؤكسد وهو عبارة عن غازات محترقة.

Flame = Fuel + oxidant

C_2H_2،Fuel = H_2

Oxidant = Air (O_2) or N_2O

$H_2 + O_2 \rightarrow$

$H - H + O - O \rightarrow$

$H - H + Q\ (Flame) \rightarrow H^{\cdot} + H^{\cdot}$

$O - O + Q(Flame) \rightarrow O^{\cdot} + O^{\cdot}$

$H^{\cdot} + O_2 \rightarrow OH + O^{\cdot}$

$H^{\cdot} + H_2O \rightarrow H_2 + OH^{*}$

$H^{\cdot} + NaCl \rightarrow HCl + Na^{\cdot}$ (الغيمة الذرية)

ان درجة الحرارة تتوقف على نوع الوقود ونوع المؤكسد وان هذه الدرجة تحدد نسبة الذرات المتهيجة اي الذرات المستقرة الطليقة المتعادلة الشحنة. لمعرفة تأثير درجة الحرارة على هذه النسبة او هذا الكسر N_1/N_0 اذ ان N_1 ذرات متهيجة وان N_0 ذرات ساكنة وهذه النسبة يمكن استنتاجها حسب معادلة بولتزمان وكما يلي:

$$\frac{N_1}{N_0} = \frac{g_1}{g_0}\ e^{-\left(\frac{\Delta E}{KT}\right)}$$

اذ ان:

g_1 = وتمثل الوزن الذري للذرات المتهيجة.

g_0 = وتمثل الوزن الذري للذرات غير المتهيجة.

T= درجة الحرارة المطلقة للهب او المحيط الحاوي على الذرات المتهيجة وغير المتهيجة.

K = ثابتبولتزمان ويساوي 1.3805×10^{-16} ارك/ درجة

N_1 = عدد الذرات المتهيجة

N_0 = عدد الذرات الساكنة غير المتهيجة

اذ ان:

$$E = hc\acute{\upsilon} = hc\lambda^{-1}\Delta$$

λ^{-1} = الطول الموجي، $\acute{\upsilon}$ = العدد الموجي.

ملاحظة: التحليل بالامتصاص الذري يكون صالح للعناصر ذات الاطوال الموجية القصيرة مثل Zn, Se....

اما التحليل بالانبعاث الذري Atomic Emission Spectroscopy تصلح للعناصر ذات الاطوال الموجية الطويلة مثل Na = 589 وK = 768 وLi = 670 وCs = 825nm.

من خلال معادلة بولتزمان يجب المحافظة على درجة الحرارة للمادة بحيث نحصل على ذرات متعادلة الشحنة اما اذا كانت درجة الحرارة عالية فيحدث تأين ونحصل على ايونات.

$$NaCl \rightarrow Na^{\cdot} + Cl^{\cdot}$$
$$Na + \emptyset \rightarrow Na^{+} + e$$

ويمكن الحصول على لهب ذو درجة حرارة ثابتة لمنع تأين الذرات، فنستطيع ايقاف عملية التأين باضافة داري التأين Ionization Buffer والذي هو عبارة عن ملح فلز ذو جهد تأين اقل من جهد تأين الفلز المراد تحليله مثلا نريد تحليل Ca الموجود بعينة $CaCl_2$ فنأخذ العينة ونردده باللهب فنحصل على ذرة طليقة Ca وذرات Cl لكن جزء من Ca

سوف يتأين فنعمل على ايقاف تأين الفلز فنضيف KCl وهو ملح ذو جهد تأين اقل من جهد تأين الفلز لذلك داريء التأين.

$$\cdot CaCl_2 \rightarrow \text{Flame} \rightarrow Ca\cdot + Cl$$

$$KCl \xrightarrow{\Delta} K\cdot + Cl\cdot$$

$$K \xrightarrow{\Delta} K^+ + e^-$$

$$Ca^{+2} + 2e^- \rightarrow Ca$$

اذ ان زيادة الالكترونات توقف التأين للفلز لانها تعكس عملية تأين الكالسيوم.

ولحساب هذه الكمية نلجأ لمعادلة ساها Saha equation

$$logK_i = [\frac{5040E_i}{T} + \frac{5}{2}logT - 6.49\,log\frac{g_m^+ g_e^-}{g_m}]$$

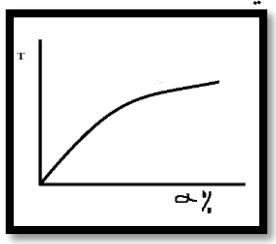
K_i = ثابت التأين للفلز في داري التأين، E_i جهد تأين الفلز في داريء التأين مقداره V

T = درجة الحرارة المطلقة للهب او المحيط الحراري.

g_m، g_e^-، g_m^+ = الاوزان الاحصائية لذرة الفلز والالكترون وايون الفلز، K_i يمكن ان يفيد في حساب ثابت التأين (α).

$$\alpha\% = (\sqrt{\frac{K_i}{p}})100$$

P = الضغط الذي تولده الذرات وهو يعبر عن التركيز ويمكن احتيار درجة الحرارة التي تعطينا اقل مما يمكن من درجة التأين وذلك كما في الرسم البياني شكل (12−4) وبذلك نستطيع اختيار اللهب بحيث يعطي اقل تأين للفلز.



شكل (12 – 4)

كيفية حساب كمية داري التأين

نستطيع حسابها من العلاقة الاتية:

$K_{im}\, C_m = (K_{ik}\, C_k)\, 100$

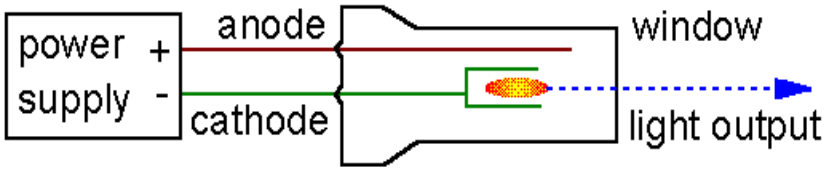
للداري للفلز

نلاحظ من المعادلة هناك اتزان ايوني الكتروني، وضربنا C_k في 100 لكي نمنع عملية التأين بصورة تامة ويمكن للتفاعل يرجع للاتجاه المعاكس.

المكونات الاساسية الاساسية لجهاز المطياف الذري

اولا: مصدر شعاع الرنين ويكون بشكلين:-

a. مصباح الكاثود المجوف HCL Hollow Cathode Lamp



شكل (12- 5) المصباح المجوف

ويتكون من قطب الكاثود (سالب) ويكون عادة بشكل اسطوانة صغيرة تصنع من فلز الزنك أو الحديد أو المغنيسيوم حسب الحاجه للاطياف الرنينية اي الفلز الذي نريد منه الاطياف الرنينية (يصنع منه القطب) اما القطب الموجب فيصنع من التنكستن ويكون قريب من الكاثود ويوضع الكاثود والانود داخل زجاجة مفرغة تحتوي على غاز خامل مثل الركون أو النيون تحت ضغط واطيء (3 tor) يمر في القطبين تيار بحدود 4–100 mA وفولتية بحدود 300 – 600v ونتيجة لذلك يحدث تفريغ كهربائي بموجبة تخرج الالكترونات من سطح الكاثود تصطدم بشدة مع ذرات الغاز الخامل وتأينة، هذه الايونات $Ar + e^-$ تصطدم بسطح الكاثود كونه سالب وتحرر ذرات الفلز المراد شعاع رنينة، $Ar^+ + 2e^- \rightarrow$ وهذه الذرات سوف تتهيج وتعطي شعاع رنيني ونأخذ الشعاع ونمرره بالغيمة الذرية للفلز المراد تحليله. هذا المصباح عمره محدود (1000 ساعة) ويفضل استخدام مصابيح جديدة لانها تعطي علامة خطية بين C, A بينما القديمة علامة منحنية.

b. مصباح اللاقطبي (عديم الاقطاب Electrodeless Discharge Lamp EDL

ويتكون هذا المصباح من بصلة زجاجية (زجاج الكوارتز) بداخلها كمية قليلة من ملح أو فلز معين أو احد املاحه للحصول على شعاع رنيني، وتحاط البصلة باسطوانة مصنوعة

من الخزف وحول الاسطوانة يوجد سلك من النحاس سميك يرتبط بمصدر للتيار الكهربائي ذو تردد عالي، هذه الحرارة سوف تسخن البصلة وبالتالي يسخن الفلز ويتهيج فتخرج ذرات متهيجة من الفلز وتعطي طيف رنيني للفلز كما في المعادله التاليه:

$$K + Q \rightarrow K^* \rightarrow \text{spectrum } \lambda_{RR}K$$

ويجب ان تحتوي البصلة بداخلها على غاز خامل تحت ضغط واطيء للحصول على طيف خطي لانه لوكان ضغط عالي فنحصل على طيف مستمر. ويفضل احيانا استخدام EDL لبعض العناصر ذات الاشعاعات الرنينية الضعيفة مثل S, AS, Te, P, Se ويتميز EDL عن HCL بكونه اغلى ثمنا وعمر تشغيلي اكثر.

ثانيا: تذرية العناصر Flame Atomization

1. التذرية اللهبيه: يستخدم الوقود وغاز مؤكسد للحصول على اللهب والحرارة والوقود، ويكون غاز هيدروكاربوني مثل الاستيلين أو البروبين وقد يستخدم الهيدروجين ويكون المؤكسد هواء أو اوكسيد النتروز أو الاوكسجين. الحرارة الناتجة تقوم بتذرية العناصر وتحويلها إلى ذرات متعادلة الشحنة.

$$CaCl_2 + Q \rightarrow Ca\bullet + 2Cl\bullet$$

ونستعمل طريقة الامتصاص الطيفي الذري لتعيين تركيز الفلز وليس اللافلز. درجة حرارة اللهب تختلف حسب الوقود ونوع المؤكسد فافضل مزيج هو الهواء مع الاستلين أو النايترس أو كساید مع الاستيلين أو هواء مع البروبين الجدول(12-1).

الوقود الناتج من O_2 النقي وH_2 لا يستعمل لانه مادة خطرة بسبب الانفجار وكذلك C_2H_2 مع O_2 خطر يسبب الانفجار لان الغازات الناتجة سرعتها عالية ويفضل ان تكون سرعة الغازات الناتجة من التفاعل بطيئة.

اللهب يقسم إلى:-

أ. لهب مؤكسد: نسبة المؤكسد إلى الوقود عالية.

ب.مختزل: نسبة الوقود إلى المؤكسد عالية.

$$\text{Oxidant} + \text{Fuel} \rightarrow \text{Flame} + \text{heat}$$

اللهب المختزل تتحرك فيه الجسيمات الكاربونية وتحتوي على كميات كبيرة من الغيوم الالكترونية اي طبيعة هذه الالكترونات مختزلة ولون اللهب يكون ابيض. اما اللهب المؤكسد يكون ذات لون ازرق مائل للاحمرار.

تتضمن التذرية اللهبيه ترذيذ محلول النموذج في اللهب وان نظام المرذاذ. مصباح الاحتراق المستعمل في الترذيذ والتذرية يسمى مصباح الصفحي لان اللهب الناتج يكون بشكل صفحة

رقيقة وثابتة. ويسمى احيانا مصباح الاحتراق ما قبل المزج premix لانه يمزج الوقود مع المؤكسد مع محلول العينة داخل المصباح. وتحولهم إلى قطيرات صغيرة (ضبابية) ترتفع إلى عنق المصباح وتحرق مكونة الغيمة الذرية للعنصر.

جدول (12– 1) درجات الحرارة العاملة في مطياف الامتصاص الذري تبعا لنوع الوقود والعامل المؤكسد

Temperature of some flames		
Fuel	oxidant	Temperature (K)
H_2	Air	2000- 2100
C_2H_2	Air	2100- 2400
H_2	O_2	2600- 2700
C_2H_2	N_2O	2600- 2800

يمرر شعاع رنين العنصر داخل الغيمة ونقيس الامتصاصية A التي تتناسب مع التركيز. يسمى عنق المصباح ب(المضرم) أو رأس المصباح. القطيرات الكبيرة التي تتكون داخل غرفة المصباح تنزل إلى الخارج ولا ترتفع إلى الاعلى. ويحتوي المصباح على مرذاذ فيه انبوب شعري موصل إلى المحلول المراد تحليله.

المرذاذ هو آلة لتحويل محلول العينة إلى قطيرات صغيرة، ويصنع المرذاذ من مادة غير قابلة للتآكل اذ ان العينات تحتوي على أحماض متخلفة عن عملية الهضم وكذلك أحماض مستخدمة في تخفيف العينات واذابتها، ويتم سحب العينات خلال أنبوبة شعرية توضع في المحلول تحت تأثير ضغط الهواء إلى داخل غرفة خلط الغازات بالموقد وتكون العينة في صورة رذاذ دقيق ويصرف بقية الرذاذ المتبقي إلى الخارج من فتحة أسفل المرذاذ nebulizer أو يتم تكسيرها إلى حبيبات أدق لزيادة حجم العينة المستخدمة في القياس التي لا تزيد عن 10 % من الكمية المستخدمة من العينة. ويكون بشكلين:

a. المرذاذ الهوائي أو (الغازي): وكفائتة واطئة اذ 90% من محلول العينة ينزل إلى الخارج اي يهمل، اذ لا يرتفع إلى الاعلى لان القطيرات كبيرة فتقدر كفائتة 10%.

b. المرذاذ فوق الصوتي: وهو بلورة من الكوارتز متصلة بخزان يحتوي على محلول مائي (محلول الارتباط) والخزان يرتبط به خزان آخر فيه محلول العينة والبلورة هذه متصلة بجهاز ذو تردد عالي 500 KHZ – 70 فالاهتزازات داخل محلول الارتبط تنتقل إلى محلول العينة وتتحول العينة إلى ضباب ينجرف بواسطة التيار ويذهب إلى اللهب وكفائتة – 50 100% لكنه غالي الثمن بسبب البلورة الذي يكون تصنيعها غالي وهو غير مستمر بالعمل

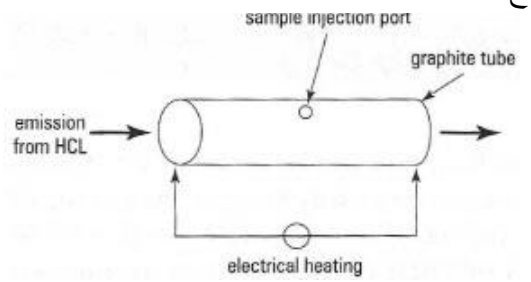
بعكس المرذاذ السابق فهو لا يصلح لاغراض التحليل الروتيني اليومي لذلك يفضل المرذاذ الهوائي.

2. تذرية غير لهبيه Non – Flame Atomization

a. تذرية كهروحرارية Electro thermal Atomization

b. تذرية باردة Cold – vapor Atomization

التذرية غير اللهبيه: يستخدم فيها تيار كهربائي أو اي وسيلة للتسخين اذ تحقن العينة بفرن مصنوع من الكرافيت وهو عبارة عن انبوب اسطواني مفتوح من الجانبين وتحقن العينة داخلة بواسطة ماصة دقيقة عن طريق ثقب موجود في الانبوب ونسخن الانبوب الكرافيتي بواسطة قطبين كهربائيين فيسخن الكرافيت وتسخن العينة وتتحول إلى بخار ذري (غيمة ذرية) ونمرر شعاع رنين العنصر ذو شدة P_0 داخل هذه الغيمة التي تمتص جزء من الشعاع ويخرج الشعاع P.



شكل (12- 5) الفرن الكرافيتي

$$log\frac{P_0}{P} = A = abc$$

س: لماذا نختار الكرافيت لصناعة الفرن أو الانبوب:-

1. ان درجة انصهاره عالية $3500\ C^0$.
2. توصيلة الحراري عالي.
3. توصيلة الكهربائي عالي.

لكن عيبة انه يحترق في الهواء ولمنع احتراقه يتم احاطته بغاز خامل مثل Ar, Ne, N_2

وعند المقارنة بين التذرية اللهبية والغير اللهبية كما يلي:

1. غير اللهبيه تكون الحساسية افضل من اللهبيه اذ تركيز الذرات يكون عالي داخل الانبوب لذا الامتصاصية تكون عالية.
2. الاستعادية (الاسترجاعية والتكرارية) لغير اللهبيه تكون واطئة نسبياً فالنتائج تكون غير دقيقة (متباعدة).

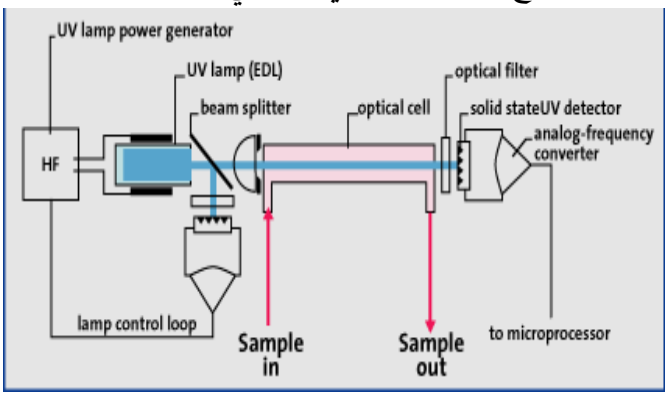
3. القمة في غير اللهبيه تخرج بشكل قمة مثلثة الشكل اما اللهبيه القمة تخرج متعرجة.

التذرية الباردة

يوجد Hg بشكلين:

1. زئبق لا عضوي
2. زئبق عضوي

ولاجل تحليل Hg نستخدم الجهاز الاتي ثم اكسدة المواد العضوية في العينة فينطلق Hg ايون ثنائي ولاكسدة العينة نستخدم مزيج من $KMnO_4$ وحامض الكبريتيك المخفف اذ يتم التسخين مع العينة لمدة ساعة بدرجة حرارة 70 $م^0$ ثم نحصل على Hg الايون الثنائي ولتحويل Hg^{+2} إلى Hg نستخدم كلوريد القصديروز في محيط حامضي فيتحول الزئبق الايوني إلى ذرات Hg الطليقة ذات الشحنة صفر ونمرر غاز الاركون أو الهواء ليجرف الذرات Hg إلى خلية الامتصاص ونمرر بالخلية شعاع رنين العنصر ونقيس A للزئبق وفق منحني المعايرة نستخرج تراكيز العينة اي Hg في العينة.

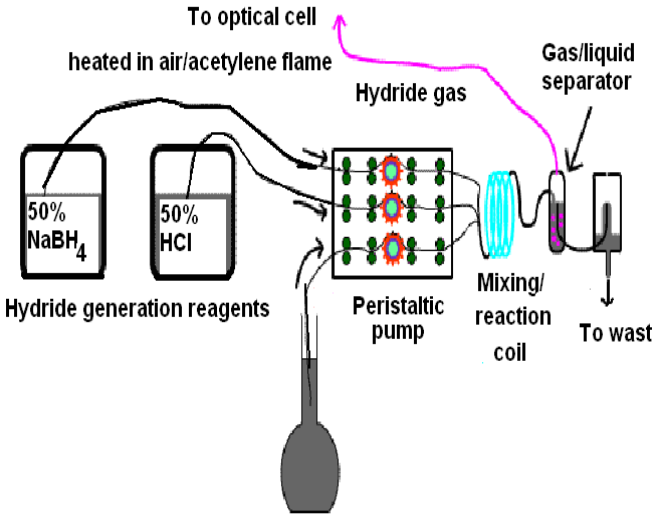


شكل (12- 6) جهاز التذرية الباردة

استخدام طريقة توليد الهيدريد Hydride Generation method

وهي طريقة قديمة تستخدم في جهاز الامتصاص الذري للعناصر لأخذ عينة كبيرة وفصل هيدريدات الغازات المتطايرة volatile gaseous hydrides لبعض العناصر، مثل:- الزرنيخ Arsenic، والسيلينيوم Selenium، والأنتيمون Antimony، والقصدير Tin، وهنا يتم اضافة مادة مختزلة reducing agent مثل مادة بوروهيدريد borohydride أو مادة ليثيوم – ألومنيوم هيدريد lithium aluminium hydride إلى حجم كبير من العينة وحمل الهيدريد المتطاير volatile hydried إلى رأس الموقد burner head في وحدة

الامتصاص الذري للعناصر وتلك العملية تسمى توليد الهيدريد hydried generation ويسمى الجزء الذي يجرى فيه هذا التفاعل الكيماوي مولد الهيدريد Hydride generator واشهر المواد المستخدمة للاختزال هي بورات الصوديوم $NaBH_4$.



شكل (12- 7) طريقة التحليل بالهيدريدات

موحد الموجات Monochromator

يستخدم المحزوز grating كموحد للموجات في مطياف الامتصاص الذري لتمييز الأطوال الموجية المنبعثة من مصدر الضوء والمارة باللهب وذلك للسماح فقط بمرور الأطوال الموجية المطلوبة دون مرور الموجات الأخرى لتصل إلى الكشاف photomultiplier tube (PMT) اذ تدخل الحزمة الضوئية المنبعثة من اللمبة والمارة باللهب من فتحة دخول موحد الموجات فتصل إلى مرآة عاكسة لتعكس الحزمة الضوئية على المحزوز grating الذي يعمل على تفريق وتمييز الموجات الساقطة عليه ثم تعكسها على مرآة عاكسة أخرى موضوعة بزاوية معينة بحيث تسمح فقط بمرور الأطوال الموجية المرغوب فيها من فتحة الخروج إلى الكشاف.

الكشاف Detector

تستخدم أنابيب تكبير الضوء photomultiplier tube للكشف عن شدة الشعاع الساقط عليها وذلك بتحويلها إلى تيار كهربائي يعتمد في شدته على شدة الضوء الساقط على

الخلية الضوئية. ثم يتم تكبير التيار الكهربي الناتج من الخلية الضوئية ويحول إلى قياسات تدل على مقدار امتصاص العينة من الضوء Absorbance على شاشة رقمية تتراوح قراءتها بين 1.999– 0.000 على أساس قانون Beer، وفي الأجهزة الحديثة تحول القراءة مباشرة إلى تركيز العنصر في العينة معبرا عنها بوحدات (ppm) mg/liter.

التقدير الكمي بواسطة مطياف الامتصاص الذري Quantitative analysis

عندما يمر شعاع ضوئي شدته ($I_\circ$) على اللهب أثناء احتوائه على العنصر المراد تقديره فان جزء من الشعاع يمتص absorbed وجزء آخر يمر transmitted. يعبر عن الجزء الممتص من الشعاع بالنسبة المئوية للامتصاص Absorption % ويمكن التعبير عن ذلك رياضيا باستخدام قانون Lambert Beer's law.

$$\text{Absorbancy } (A) = \text{Log } (I_\circ - I)$$
$$= \text{Log } 100/\ \%T$$
$$= \text{Log } 100 - \text{Log } \%\ T$$
$$= 2 - \text{Log } \%\ T$$

اذ: A تعبر عن الامتصاص. $I_\circ$ شدة الشعاع الساقط من مصدر الضوء . I شدة الشعاع النافذ إلى أنابيب تكبير الفوتونات PMT.

$$A = 2 - \text{Log } \%\ T$$
$$= K\ L\ C$$

اذ: K معامل الامتصاص ويتوقف على نوع العنصر المراد تقديره. L طول مسار الضوء في العينة (flame). C تركيز العنصر.

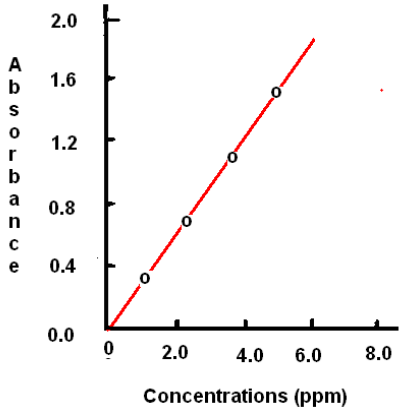
يمكن تمثيل العلاقة بين الامتصاص وتركيز العنصر المراد تقديره في صورة معادلة خط مستقيم وتوقيعها بيانيا

$$A = 2 - \text{Log } \%\ T$$

وعندما يحدث امتصاص كامل لشدة الضوء السقط فان النفاذية تكون صفر.

$$\text{Log } \%\ T = \text{zero}$$
$$A = 2 - \text{Log zero}$$
$$\therefore\ A = 2 = K\ L\ C$$

توقع A على المحور الصادي بحد أقصى 2 أي عندما يحدث امتصاص كامل للضوء الساقط، وتوقع C على المحور السيني ويعبر عن التركيزات المختلفة للعنصر المراد قياسه بوحدات ppm ويجب أن تقع القراءات في خط مستقيم حتى ينطبق عليها صورة معادلة الخط المستقيم.



شكل (12- 8): العلاقة بين الامتصاص وتركيز العنصر المراد تقديرة

<u>الاحتياطات الواجب اتباعها عند استخدام وتداول العينات للتحليل باستخدام جهاز الامتصاص الذري للعناصر:</u>

ان تلوث العينات أو فقد جزء منها أثناء التقدير يعتبر هام جداً خاصة عند تحليل تركيزات ضئيلة منها. ومن مصادر تلوث العينات في معامل التحليل:

1- الأتربة والغبار dust الموجودة في هواء المعمل

2- الشوائب impurities الموجودة في الكيماويات المستخدمة في التحضير

3- الشوائب والأتربة الموجودة على الأجهزة الموجودة بالمختبر

4- في حالة العينات السائلة فان الاوعية التي توضع فيها العينات sample containers يمكن أن تسبب خطأ في القياس، وقد يكون هذا الخطأ بالزيادة positive error أو بالنقص negative error اذ يمكن أن يحدث انتقال للملوثات من الجدار الداخلي للاوعية إلى محلول العينات فيزيد التركيز أو العكس قد يحدث امتزاز (adsorption) لبعض العناصر من محلول العينات على جدار اوعية العينات.

5- يمكن استخدام اوعية العينات sample bottle المصنوعة من زجاج السليكا borosilicate glass أو من البولي اثيلين polyethylene أو من البولي بروبيلين polypropylene أو من التيفلون Teflon وذلك بعد تنظيفها على النحو الاتي:

- غسلها جيدا بالماء العادي والصابون
- غسلها بمحلول من حامض النتريك والماء العادي بنسبة 1:1.
- غسلها بمحلول من حامض الهيدروكلوريك والماء العادي بنسبة 1:1 .
- غسلها بماء مقطر منزوع الأيونات deionized distilled water .

يمكن استخدام حامض الكروميك Chromic acid في الغسيل لازالة المتبقيات العضوية من الزجاج ولكن يجب الغسيل جيدا بالماء للتخلص من آثار الكروم وخاصة اذا كنا نرغب في تقدير عنصر الكروم في العينات.

تحضير المحاليل القياسية Preparation of standard solution

يتم التحضير باستخدام معادن عالية النقاوة high purity metals أو أكاسيدها metal oxides أو أملاح المعادن النقية non hygroscopic reagent grade salts باستخدام ماء مقطر منزوع الأيونات deionized distilled water وأحماض النيتريك أو الهيدروكلوريك بعد تقطيرها redistilled nitric or hydrochloric acids وينصح بتجنب حمض الكبريتيك والفوسفوريك. وعموما تستخدم الآن أحماض عالية النقاوة دون الحاجة إلى تقطيرها.

يتم تحضير تركيز 1000 ppm من العنصر المراد تحليله، ويمكن استخدام المحاليل القياسية المحضرة تجاريا Commercially standard solutions

يتم تجهيز محاليل قياسية للمعايرة Calibration standards بتخفيف تركيز المعدن الأصلي عند وقت التحليل ويجب أن يتم ذلك عند كل تحليل ويهمل ما يتبقى من تلك المحاليل المخففة للمعايرة ولا تستخدم في المرة التالية للتحليل.

يجب تحضير بلانك blank وعلى الأقل أربعة تركيزات calibration standards متدرجة التخفيف في المدى المناسب للقياس وهو المدى الخطي linear range أي الذي يكون فيه علاقة تضاعف طردية بين التركيز والامتصاص.

وكل عنصر من العناصر له مدى من التركيزات التي يكون فيها الاستجابة خطية في حالة القياس بطريقة اللهب وفي حالة القياس بالأفران الكهربائية وكذلك حدود التقدير تختلف في كل طريقة. جدول (12- 2).

جدول (12- 2) الحساسية وحدود التقدير للعناصر باستخدام مطياف الامتصاص الذري.

Metal	Flame technique					Furnace technique			
	Det . Limit Mg/L (ppm)	Sensit . mg/L (ppm)	Optimum Concentration range mg/L (ppm)			Det. Limit µg/L (ppb)	Optimum Concentration range µg/L(ppb)		
Al	0. 1	1	5	-	50	3	20	-	200
Sb	0. 2	0. 5	1	-	40	3	20	-	300
Ba	0. 1	0. 4	1	-	20	2	10	-	200
Cd	0. 005	0. 025	0. 05	-	2	0. 1	0. 5	-	10
Co	0. 05	0. 2	0. 5	-	5	1	5	-	100
Cu	0. 02	0. 1	0. 2	-	5	1	5	-	100
Fe	0. 03	0. 12	0. 3	-	5	1	5	-	100
Pb	0. 1	0. 5	1	-	20	1	5	-	100
Mg	0. 001	0. 007	0. 02	-	0. 5	-		-	
Mn	0. 01	0. 05	0. 1	-	3	0. 2	1	-	30
Hg	0. 0002	-	0. 0002	-	0. 01	-		-	
Ni	0. 04	0. 15	0. 3	-	5	1	5	-	50
K	0. 01	0. 04	0. 1	-	2	-		-	
Se	0. 002	-	0. 002	-	0. 02	2	5	-	100
Ag	0. 01	0. 06	0. 1	-	4	0. 2	1	-	25
Na	0. 002	0. 015	0. 03	-	1	-		-	
Sn	0. 08	4	10	-	300	5	20	-	300
Zn	0. 005	0. 02	0. 05	-	1	0. 05	0. 2	-	4

المعايرة أو التقييس Calibration or Standardization

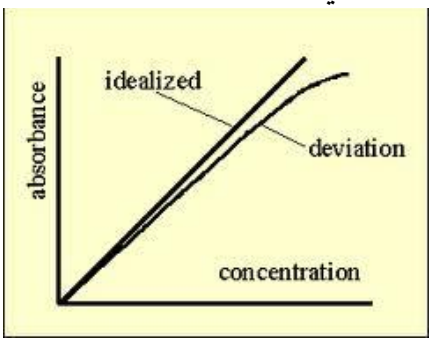
تتطلب المعايرة تحقيق علاقة بين تجاوب الاشارة ومجموعة من المحاليل القياسية. والمحاليل المعيارية في الامتصاص الذري هي متتاليات من المحاليل المائية ذات تراكيز مختلفة من العنصر المطلوب تحليله. واختيار المحلول القياسي الاصلي امر بالغ الاهمية، وهو الذي سيحضر منه باقي التراكيز، ووجود أي شوائب فيه سيعني انتقال هذه الشوائب إلى جميع المحاليل المعيارية. ويمكن ان تكون المادة القياسية بشكل مسحوق أو اسلاك أو قضبان.. الخ، أو ملح ذو نقاوة عالية أو أكسيد. ويمكن الحصول على هذه المحاليل المعيارية عالية النقاوة من الشركات الكيميائية المتخصصة. ومن الاهمية بمكان توخي الدقة التامة خلال نقل المحاليل إلى الاوعية الزجاجية الحجمية، وذلك من خلال استعمال ماصات معايرة ودوارق حجمية. والمعايرة يكون بشكلين:

1. المعايرة المباشرة Direct Calibration.
2. المعايرة غير المباشرة أو تسمى طريقة الاضافات القياسية Standard addition.

– المعايرة المباشرة

يحضر منحني المعايرة المباشرة من محلول بسيط يحتوي على احد املاح الفلز المراد تحليله فمثلاً لتحضير معايرة مباشرة لتحليل ايون الرصاص في عينة، يحضر محاليل

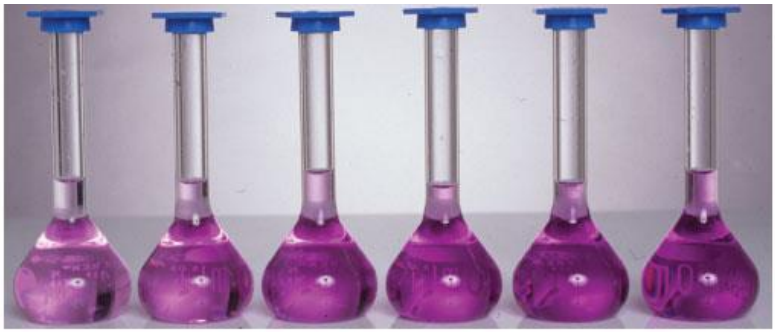
معايرة من نترات الرصاص يحتوي على تراكيز معلومة من ايون الرصاص ثم تقاس ممتصيات هذه المحاليل ومن خلال القراءات يتم رسم المنحني القياسي بين التركيز والممتصية ومن خلال هذا المنحني ممكن تقدير تركيز الرصاص في العينة.

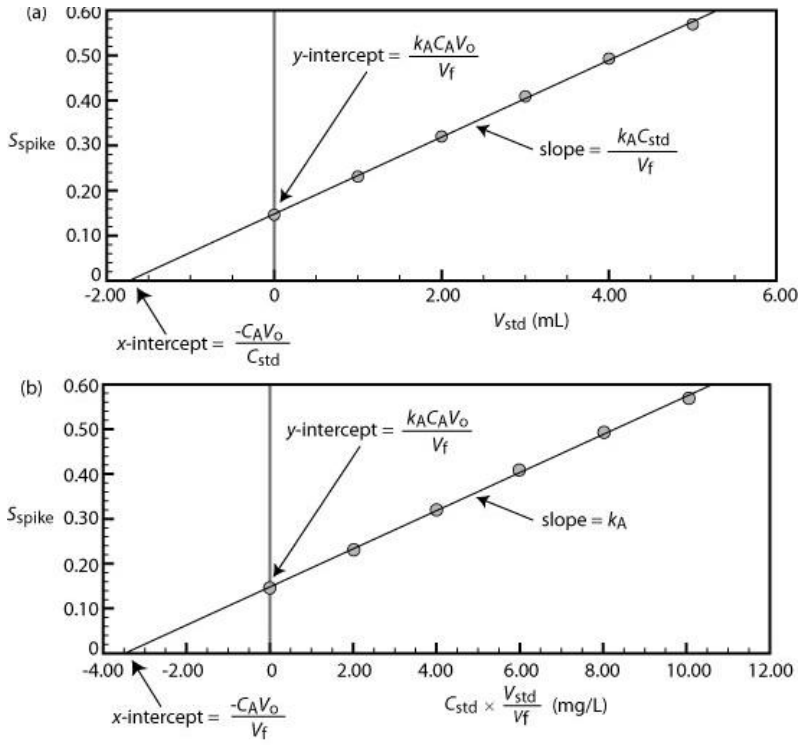


شكل (12 – 9) الطريقة المباشرة

– طريقة الاضافات القياسية

ويوجد طريقة بديلة عن المعايرة المباشرة الا وهي طريقة اضافات المحاليل القياسية ونلجأ لهذه الطريقة عند وجود كميات من المواد المسببة للتداخلات، وفي هذه الطريقة لا تمر المنحني القياسي في نقطة الصفر في كلا الاحداثيين y،x والغرض من استعمال طريقة الاضافات القياسية هو للتخلص من تأثير التداخلات على العينة، وهكذا فان المحاليل القياسية ستحتوي على نفس الاحجام من العينة أي سنضيف الحجم نفسة من العينة إلى جميع المحاليل القياسية. وسيتم قياس كل محلول قياسي الحاوي على نفس الحجم من العينة وسيتم تسجيل الامتصاصية لكل محلول كما في السابق. وعلى كل حال سينتج نوع جديد من المنحنى القياسي يتضمن قياس قيم الامتصاص مقابل قيم التركيز، وفي هذه الحالة فان المنحنى البياني لن يمر من خلال نقطة الصفر في كلا الاحداثيين ولكن اذا رسم بشكل جيد فيمكن مد الرسم البياني بإتجاه محور x من الجهة الاخرى حتى يتقاطع معه في نقطة تكون قرائتها هي قيمة التركيز المجهول للعينة كما في الشكل (13–10)، ومن الضروري ان يكون المنحنى البياني خطياً على مداه كاملا، والا نتج خطا كبير.





شكل (13- 10) منحني الاضافات القياسية

س: ماسبب وجود خطين متوازيين لكل من الطريقه المباشره وطريقة الاضافات القياسية؟

الجواب ، هو وجود ظاهرتين :

1. ان الخطين متوازيين اي ان تصرف الفلز تحت التقييم في المحاليل للطريقتين متشابهة.
2. مرور خط المعايرة بنقطة الصفر في الطريقة المباشرة وعدم مروره في الطريقة غير المباشرة، اي يمكن استخدام اي الخطين لايجاد تركيز العنصر المطلوب.

س: ما اهمية طريقة المعايرة بالاضافات القياسية؟

تستخدم هذه الطريقة عندما تكون هنالك تداخلات كيميائية تؤثر على نتيجة التحليل مثل تفاعل العناصر المتواجدة في نفس الغينة المراد تحليلها. فمثلاً تعيين Ca مع السليكا مكونا مادة يصعب تذريتها وهي $CaSiO_3$ لذا تستخدم طريقة اضافات القياس لانها لا تتداخل العناصر مع العينة اي نتخلص من التداخلات الكيميائية بواسطة جعل Ca في المحلول القياسي والمحلول المجهول تحت نفس الظروف التجريبية اي ما يحدث ل Ca في كل من المحاليل القياسية ومحلول العينة متساوي فاذا تفاعل Ca مع السليكا في السمنت فالتأثيرين الواحد يلقي الاخر فنتيجة التحليل تكون صحيحة ودقيقة.

اسلوب تصحيح الخلفية الامتصاصية

هناك سببان لوجود خلفية امتصاصية اي ان هناك عوامل اخرى تمتص شعاع الرنين بالاضافة للعنصر المراد تحليله فهذه العوامل الدخيلة تسمى ممتصية خلفية Back ground absorbency

1. الامتصاصات الجزيئية
2. بعثرة جزيئية (استطارة جزيئية)

ولاجل حذف هذه العوامل تستخدم طريقتين طيفيتين:

1. طريقة الخطين الطيفيين: وتتضمن امرار شعاع رنين العنصر في الغيمة الذرية أو اللهب لذلك العنصر وتسجيل A وهذه الممتصية تتكون من الممتصية الجزيئية مع الممتصية الذرية (الخطوة الاولى). وبعد امرار شعاع رنين مقارب لشعاع رنين العنصر المراد تحليله في الغيمة الذرية (الخطوة الثانية) وبهذه الطريقة تخلصنا من الامتصاص الجزيئي .

A_1 = A molecules + A atom
A_2 = A molecules
$A_1 - A_2$ = A atom

2. طريقة الطيف المستمر للهيدروجين: تتضمن هذه الطريقة امرار شعاع العنصر المراد تحليله من خلال الغيمة الذرية لذلك العنصر وتسجل الممتصيات ثم بنفس الوقت نمرر الطيف المستمر للهيدروجين لكن طيف الهيدروجين المستمر ليس رنيني دائما ذري لذا يمتص من قبل الجزيئات المبعثرة والفرق بين الممتصيتين يعطي A.

التداخلات interferences في طيف الامتصاص الذري

ان الحصول على نتائج موثوقة وجيدة يعتمد على قدرة ومهارة المحلل وتطبيق الطرق التحليلية المناسبة، ولكن حتى مع توفر الشروط السابقة فان النتائج قد تبقى غير دقيقة فما هو السبب؟ قد يكون السبب غير واضح لكن قد تكون التداخلات هي السبب. وتصنف هذه التداخلات بحالة لهب الامتصاص الذري إلى: فيزيائية وطيفية وكيميائية بالاضافة إلى التأينية. وللحصول على نتائج جيدة لا بد من فهم سبب هذه التداخلات وكيفية التخلص منها. ويمكن تقسيم التداخلات إلى:-

- تداخلات التذرية اللهبيه

- التداخلات الكيميائية

تنشا هذه التداخلات عندما يشكل العنصر المطلوب قياسه مركباً ثابتاً حرارياً مع مكونات جزيئية أو ايونية معينة في محلول العينة. وافضل مثال على هذا التداخل هو وجود الفوسفات أو السيليكات أو الالومينات في محلول العينة مسببا انقاصا في اشارة الامتصاص للمعادن القلوية الترابية في لهب اسيتيلين- هواء. وان تاثير زيادة كميات الفوسفات على اشارة امتصاص الكالسيوم عند طول موجة 422.7 نانوميتر. وانقاص شدة الاشارة ناشيء من تكون فوسفات الكالسيوم الثابت حراريا.

$$Ca^{+2} + PO_4^{-3} \rightarrow Ca_3(PO_4)_2$$

أو تواجد الالمنيوم مع السليكا في العينة يعيق تذريته:

$$Al + SiO_2 \rightarrow Al_2(SiO_3)_2$$

سليكات الالمنيوم صعبة التحول إلى الذرات Al لذلك يمكن التخلص من هذه الظاهرة اما برفع درجة حرارة اللهب لتفكيك المحلول أو باضافة إلى المحلول الحاوي على كل من Ca^{+2} وPO_4^{-3} مركب اخر واليكن $LaCl_3$ اذ يتفاعل La مع الفوسفات ليعطي محلول Ca لوحدة يمكن تذريتة وهناك الكاشف يسمى **بالكاشف المعتق**.

$$La^{+3}Cl_3^- + PO_4^{-3} \rightarrow LaPO_4 + Ca^{+2}$$

- **التداخلات الايونية**

وهذه التداخلات هي طور بخاري ويتفاقم هذا النوع من التداخلات مع العناصر القلوية والقلوية الترابية، بسبب جهود تاينها المنخفضة والتي تؤدي إلى التاين في الوسط الحراي للهب، والان لماذا يكون التاين مشكلة في الامتصاص الذري؟

من الواضح انه بحدوث تاين فلن يكون هناك ذرات وبالاتي لن يكون اشارة امتصاص للقياس:

$$Na \rightarrow Na+ + e-$$

ولمنع حدوث هذه الظاهرة الغير مرغوب فيها يلجا إلى اضافة مانع للتاين أو محلول معالج Ionization Buffer. والمحلول المانع للتاين المثالي هو عنصر قلوي اخر مثل السيزيوم. اذ ان اضافة الاخير بكميات زائدة سيؤدي إلى تاينه بدلا من العنصر المطلوب مثل الصوديوم، أي ان اضافة زيادة من السيزيوم سيمنع تاثير تاين الصوديوم، وهذا التاثير يطلق عليه اسم تاثير **فعل الكتلة**.

- **التداخلات الفيزيائية**

تتعلق التداخلات الفيزيائية في لهب الامتصاص الذري الطيفي ينقل محلول العينة إلى اللهب، وهذه التداخلات تتعلق بطبيعة العينة مثل اللزوجة وتحويلها إلى قطيرات بغرفة الترذيذ، والضباب أو القطيرات المتكونة تتعلق بالتوتر السطحي والكثافة ولزوجة محلول العينة وسبب اللزوجة هو اختلاف تراكيز الحوامض والاملاح ونوع المذيب في المحاليل القياسية ومحلول العينة. ويسيطر على هذا النوع من التداخل بمساواة الظروف لمكونات محاليل العينات والمحاليل القياسية، واذا لم يكن هذا ممكنا نلجا إلى طريقة اضافة المحلول القياسي. وللتطبيق الناجح لطريقة اضافة المحاليل القياسية فمن الضروري ان يكون المنحنى القياسي خطيا على مدى الامتصاص المطلوب تغطيته وان يتم تحضير عدد معقول من المحاليل (5 أو 7). وبرسم المحاليل القياسية جنبا إلى جنب الاضافات القياسية فمن الممكن ملاحظة التداخلات الفيزيائية. فاذا لم يتوازى المستقيمان دل ذلك على وجود تاثيرات تداخلية فيزيائية مسببة زيادة أو نقصا. فمثلا اذا كان لدينا محلول Ethanol Ag، Aqueous Ag نلاحظ تحويل Ag في المحلول الكحولي إلى ذرات اسهل من الاخر لان اللزوجة للايثانول اقل من الماء وستكون تذرية الكحول افضل من الماء لان قوى فاندرفال اقل من الماء. كما ان المحلول الحاوي على جزيئات عضوية يكون احتراقه اسهل من الماء اي تقلل درجة حرارة اللهب.

- **التداخلات الطيفية**

لحسن الحظ هذا النوع من التداخل غير شائع في الامتصاص الذري الطيفي بسبب الانتقائية العالية التي تقدمها طريقة القفل والمفتاح. ولكن كمثال فان الخط الرنيني للنحاس (324.753 نانوميتر) يتصادف مع خط اليوربيوم (324.753 نانوميتر). وعلى كل حال اذا لم يفوق اليوربيوم 1000 ضعف النحاس فلن يكون هناك أي تداخل ملحوظ عند قياس النحاس. وبالاضافة إلى التداخل الطيفي الذري يوجد امتصاصات جزيئية مثل ان هيدروكسيد الكالسيوم له حزمة امتصاص عند طول موجة الباريوم عند55. 523

نانوميتر، والرصاص عند 0 .217 ناوميتر والتي لها امتصاص جزيئي من كلوريد الصوديوم.

الحساسية Sensitivity

هي تركيز العنصر المراد تقديره في المحلول بوحدات مللي غرام/ليتر (mg/ L) والذي يمتص ما يوازي 1 % من الأشعة الآتية من مصدر الضوء الخاص بالعنصر. أو هي تركيز العنصر (mg/ L) الذي يعطي امتصاص يساوي 0.0044 تبعا لقانون Lambert – Beer.

A = Log 100- Log %T
% A = 100 - % T ……(1)
% T = 100- % A، % A = 1
% T = 100 –1 = 99 …….. (2)
From (1) and (2)
A = Log 100 – Log 99 = 2 - 1. 9956 = 0. 0044

وفي النهاية يمكن القول أن الحساسية sensitivity هي التركيز الذي يقابل امتصاص قدرة 0.0044 أو 1 % من الشعاع الساقط.

- فوائد الحساسية

1. لمعرفة اذا كان الجهاز (AAS) يعمل ضمن اعلى كفاءة تجريبية وذلك بقياس ممتصية لتركيز معين ومقارنته مع النتائج المتوقعة لها.
2. لحساب مدى تراكيز العينة التي توفر اقصى مستويات من الممتصية ويقع هذا المدى من (10– 100) مرة بقدر قيمة الحساسية $sensitivity = \frac{0.0044 \times C}{A}$

مثال: 0.1 ppm Zn حساسية الزنك 1= 0.1×10 و10 = 100 × 0.1 فيكون مدى حساسية الزنك ppm (10 – 1).

3. ان الجهاز يعطي دائما نفس الحساسية بتقادم الزمن.

حدود التقدير Detection Limit

هو أقل تركيز من العنصر يمكن تقديره بحد ثقة confidence limit يصل إلى 95 % أو هو أقل تركيز يعطي اشارة مميزة عن الـ back ground noise وهي تعادل ضعف قيمة تذبذب قراءة البلانك على الجهاز (signal to noise ratio) أو هي تركيز العنصر الذي يعطي امتصاص يساوي ضعف قيمة الانحراف القياسي لسلسلة من القياسات.

ويمكن حساب حد الكشف بواسطة معادلة بسيطة:

$$\text{Detection Limit} = \frac{2SC}{\bar{X}}$$

C = التركيز، S = الانحراف المعياري، $\bar{X}$ = الوسط الحسابي للممتصية.

ويتم حساب الانحراف المعياري Standard Deviation.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

X = القراءة، $\bar{X}$ = معدل القراءات، N = عدد القراءات.

تطبيقات تحاليل الامتصاص الذري

1. تحاليل الجو: الجو مكون من غبار تحتوي على اكاسيد المعادن والفلزات واللافلزات وغيرها والذي يهمنا هو تحليل الفلزات بطريقة الامتصاص الذري، ويتم ذلك بمحلول الحامض.

2. تحليل الاغذية والمشروبات: الاغذية كاللحوم والخضروات والفواكة من السهل تحليلها باخذ وزن معين منها ثم نذوب بحامض $H_2SO_4 + HNO_3$ أو مزيج من حامض ($HClO_4 + HNO_3$) اي نضيف HNO_3 ونسخن ونبرد ثم نضيف $HClO_4$ ونسخن إلى ان ينتهي خروج الابخزة البيضاء أو اي نقطة ما قبل الجفاف ثم نبرده ونخفف إلى حد العلامة بالماء الخالي من الايونات ونقيس الامتصاصية بواسطة الجهاز. اما المشروبات فمعظمها مائية، أولا نتخلص من CO_2 بواسطة طريقة الانتقال من اناء لاخر ثم التخفيف بالماء ونقيس الامتصاصية.

3. تحاليل البترول ومشتقاته: يحتوي على فلزات منها V،Ni إلى عناصر اخرى موجودة بشكل مركبات عضوية في النفط الخام فيجب معاملتهم معاملة خاصة فاما تخفيف عينة

البترول باستخدام مذيب عضوي (white spirit) أو تخفف بمذيب الزايلين ثم نحلله بجهاز الامتصاص الذري. واهم المذيبات العضوية 1,2- dichloroethane، xylene

4. تحليل المواد السليكونية: ان اذابة المواد السليكونية ضروري قبل البدء بالتذرية الكهروحرارية ولو ان بعض النجاح قد تم بتحليل الصلب مباشرة. ويفضل الاذابة بالحوامض تحت ضغط.

5. تحليل الترب والنباتات والمخصبات: تحتسب العناصر الغذائية والسامة بواسطة التذرية العناصر المتطايرة نستعمل الطريقة الرطبة (اي باضافة الحوامض) أو استخدام طريقة الاستخلاص للعناصر ذات الاهمية النباتية.

اسئلة الفصل الثاني عشر

1- علل باسلوب علمي دقيق لما ياتي:

a- يستعمل الامتصاص الذري لتعيين الفلزات ولا يستعمل لتعيين للافلزات

b- اضافة محلول KCl عند تقدير الصوديوم بتقنية الامتصاص الذري

c- التذرية غير اللهبيه للعنصر اكثر حساسية من التذرية اللهبيه

d- يمكن حساب مقدار دارىء الذي ينبغي ان يضاف إلى محلول العينة لمنع تاين عناصرها في درجة حرارة معينة

e- هنالك اساليب عديدة لتجنب تاثير التعادلات الكيميائية على تعيين العناصر بطريقة الامتصاص الذري

f- معرفة حساسية العنصر بطريقة الامتصاص الذري مفيدة

g- تستخدم تحاليل الامتصاص الذري بدل الانبعاث الذري لتعيين الفلزات ذات الاشعاعات الرنينية القصيرة الموجة

h- لا يجوز امرار اكثر من التيار الاعظم في مصباح الكاثود المجوف

i- احيانا يفضل استعمال المرذاذ الفوق الصوتي على المرذاذ الهوائي

k- تزداد حساسية تحاليل العنصر عند تذريتة بشكل محاليل ذات مذيبات عضوية

2- قارن بين ما ياتي:

a- الكاشف المعتق ودارىء التأين.

b- الطريقة اللهبيه والطريقة الكهروحرارية في الامتصاص الذري.

3- ميز بين الحساسية وحدود الكشف في الامتصاص الذري اللهبي.

4- ناقش باختصار انواع المتداخلات في تحليل الامتصاص اللهبي.

5- لتحليل Ca بطريقة AAS يضاف إلى كل من المحاليل القياسية والعينة كميات مناسبة من KCl اشرح ذلك.

6- اذكر الفروقات الرئيسية لطريقة الاضافات القياسي وطريقة القياسي الداخلي.

7- عرف ما يأتي: التذرية الباردة، مصباح الكاثود المجوف.

8- اشرح مع الرسم مصباح الكاثود المجوف HCL

9- ارسم المخطط العام لجهاز الامتصاص الذري اللهبي معلما على اجزاءه.

10- ما التحديدات الرئيسية في تحليل الامتصاص اللهبي عند ظهور مدى واسع من التراكيز لعناصر في النموذج.

11- لماذا تظهر الخطوط الطيفية حادة في الامتصاص الذري اكثر مما في الطيف الامتصاصي الجزيئي وضح ذلك.

12- ارسم معلما بالتفصيل منحني المعايرة لنموذج مجهول تركيزه تم اجراء تحليله في المختبر

الفصل الثالث عشر
اطياف الانبعاث الذري

أطياف الانبعاث (Emission Spectroscopy)

لاحظ العلماء أن الكثير من الفلزات عندما تتعرض للإثارة (excitation) من قبل مصدر طاقة معين ثم تعود فتبعث أشعة ذات طول معين يسمى طيف انبعاث الفلز. وقد يكون طيف الانبعاث بسيطا ويحتوي على عدد قليل من الخطوط الطيفية كما لعناصر الحديد واليورانيوم. ولما كان كل عنصر يعطي طيفا مختلفا عن العناصر الأخرى أمكن استغلال هذه الخاصية خصوصا في التحاليل النوعية، اذ يمكن تعيين نوع العنصر الموجود في العينة من خلال دراسة طيف الانبعاث لها. ومن الناحية النظرية فان لجميع العناصر المعروفة أطياف خاصة بها، إلا إن الطاقة العالية التي تحتاجها بعض العناصر للإثارة جعل هذه الطريقة مقصورة على بعض العناصر الفلزية فقط، وقد أمكن أيضا استغلال أطياف الانبعاث في التحليل الكمية باعتبار إن شدة الشعاع المنبعث لطول موجي معين تتناسب طرديا مع كمية العنصر الباعث في النموذج.

طرق التحليل بأطياف الانبعاث:-

آ- طرق التحليل غير اللهبيه (nonflame methods) تتميز هذه بأنها تستعمل طرق إثارة فيزيائية متنوعة لا يدخل من ضمنها استخدام اللهب. وتقسم تبعا لنوع الطريقة المستخدمة في إثارة ذرات الفلز إلى:-

أولا – الإثارة باستعمال القوس الكهربائي للتيار المستمر.

ثانيا – الإثارة باستعمال القوس الكهربائي للتيار المتناوب.

ثالثا – الإثارة بالشرارة للتيار المتناوب.

رابعا – الإثارة بواسطة الليزر.

ب – طرق التحليل اللهبيه (Flame Spectroscopy)

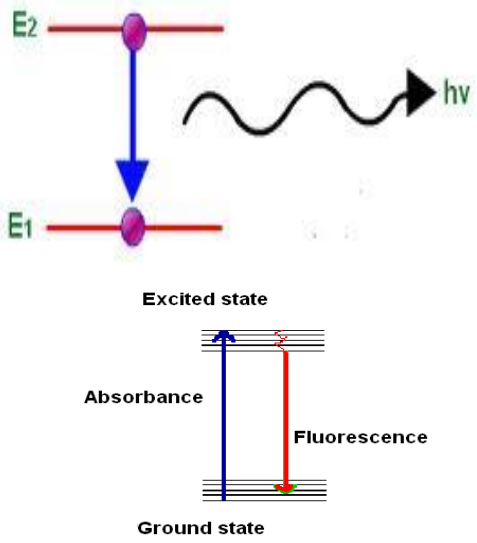
تختلف طرق التحليل اللهبيه عن طرق التحليل غير اللهبيه في أنها تستخدم اللهب كوسيلة لإثارة ذرات الفلز للحصول على أطياف الانبعاث. ويوجد أنواع متعددة من مصادر اللهب والمشاعل التي تختلف حسب تصميمها وطريقة عملها وتصل درجة حرارة اللهب في الأنواع الشائعة الاستعمال إلى ما بين ($2000- 3000^0k$) وهناك العديد من الغازات التي تستعمل كوقود في المشاعل مثل الهيدروجين والاستلين والبروبان مع الاوكسجين أو الهواء. أما

المشاعل المستخدمة في هذه الطريقة فهي تشابه المشاعل المستخدمة في طريقة الامتصاص الذري (المشعل ذو الخلط المسبق، والمشعل ذو الاستهلاك الكلي).

طيف الإصدار الذري لعنصر ما هو عبارة عن الشدة النسبية للأمواج الكهرومغناطيسية لكل تردد يتم إصدارة عند تسخين هذا العنصر. فعندما تثار الإلكترونات في عنصر ما نتيجة اكتسابها للطاقة (بالتسخين مثلا) فإنها تقفز إلى مدارات طاقية أعلى، وعندما تعود إلى المستوى الطاقي الذي بدأت منه تصدر الطاقة المكتسبة مرة أخرى على شكل شعاع ضوئي له تردد معين (فوتون). ويتم تسجيل طول موجة الأشعة الكهرطيسية الصادرة عن طريق مطياف الإصدار الذري الذي يظهرها على شكل خطوط ضوئية متوازية مميزة لكل عنصر، مثلما تميز "بصمات" شخص عن شخص آخر.

طيف الانبعاث للعناصر هو خاصية مميزة لكل عنصر كيميائي، فلا يوجد عنصران يحملان نفس طيف الإصدار، لذا فهو يعتبر بصمة العنصر، اذ يمكن معرفة العنصر عن طريق قياس الطيف الخاص به.

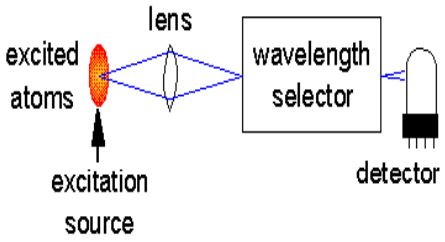
ومثال ذلك عند تحليل طيف الإصدار الذري لضوء الشمس يظهر طيفا ذرتي الهيدروجين والهيليوم بوضوح، وبهذا تمّ الاستنتاج بأن الشمس تتكون بصفة أساسية من الهيدروجين والهيليوم. وقد استطاع العالم (فراو نهوفر) تفسير هذا الطيف.

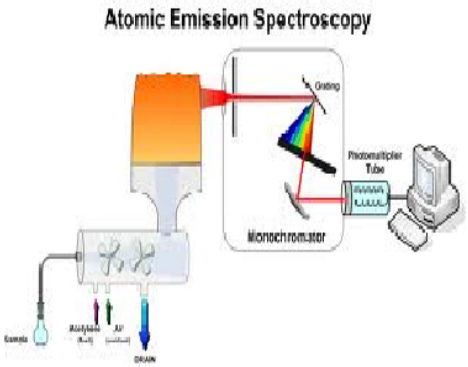


شكل (13- 1) امتصاص وانبعاث الطاقة بواسطة اليكترونات الذرة

- تتكون أجهزة قياس ضوئية اللهب من الأجزاء الاتية:-

1. المشعل Burner
2. عدسة (أو مجموعة عدسات) lenses
3. فتحة slit
4. موحد الألوان Monochromator
5. الكاشف Detector
6. المضخم Amplifier
7. المسجل أو القارىء Recorder





شكل (13- 2) مخططات لعمل جهاز الانبعاث الذري

-العوامل المؤثرة على أطياف اللهب:-

هناك عدد من العوامل والتداخلات الكيميائية والفيزياوية التي تؤثر على أطياف اللهب لبعض العناصر وهي:-

1. تأثير استخدام المذيبات العضوية
2. تأثير الامتصاص الذاتي.
3. تأثير التأين.
4. تأثير تداخل الايونات السالبة.

طريقة البلازما Inductively coupled plasma

وطريقة البلازما هي طريقة مطورة من طريقة أطياف الانبعاث، اذ يتم إثارة ذرات العنصر بدرجات حرارية عالية (5000-10000 ^{o}k) ويستخدم مصباح الأركون المؤين للحصول على درجات حرارية تكفي لتفكيك الجزيئات إلى ذرات مثارة سرعان ما تفقد الطاقة للعودة إلى حالة الاستقرار وتبعث أطياف ضوئية بطول موجي يعتمد على نوع العنصر الموجود

في النموذج، اذ يتم ضخ محلول النموذج مع تيار غاز الأركون إلى المصباح وبفعل الحرارة الناتجة من تأين غاز الأركون بفعل الحث الناتج من ترددات راديوية وكما اشرنا فان الأطياف المنبعثة يتم من خلالها تحديد نوعية وكمية العنصر أو العناصر الموجودة في النموذج بواسطة الكاشف التابع لجهاز الفحص وبهذه الطريقة تم تلافي المشاكل التي كانت تقف عائقا أمام طرق الانبعاث السالفة الذكر وبدقة عالية قد تصل إلى أجزاء بالبليون (ppb). وتتميز طرق الانبعاث الذري عن طرق الامتصاص الذري، بعدم استخدام المصابيح المجوفة (hollow cathode lamb) مما يؤدي إلى السرعة في إنجاز الفحوصات، اذ ان المصباح المجوف يختص بعنصر بعينة (لانه من النادر أن يكون المصباح المجوف متعدد العناصر تجنبا للتداخلات) وكذلك عدم استخدام غازات وقود وغارات أكسدة كما هو الحال في الامتصاص الذري. بالإضافة إلى انه يمكن ضخ النموذج كما هو سواء كان السائل عضوي أو محلول مائي بطريقة البلازما على عكس طريقة الامتصاص الذري حيث يستحسن جعل النموذج العضوي المعدني بشكل محلول مائي بطريقة الترميد ومن ثم إذابة الرماد بحوامض معدنية (HNO_3 $HClO_4$ HCl) مركزة.

ومشعل البلازما ذات الحث المقترن (ICP Torch) يتكون من انبوب داخلي ذو قطر صغير مصنوع من زجاج الكوارتز ثم يلي ذلك انبوب خارجي يحيط بالاول مصنوع ايضا من زجاج الكوارتز. يدخل إلى الانبوب الخارجي غاز الاركون أو غاز النتروجين البارد ثم يدخل إلى الانبوب الوسط غاز الاركون لوحدة الذي يساعد على تكون الشعلة ثم يدخل إلى الانبوب الداخلي مزيج من غاز الاركون ومحلول العينة وهذا المزيج يطلق عليه بالضباب aerosol يتم تشغيل اللهب بواسطة ولاعة كهربائية فتتكون اللهبة.

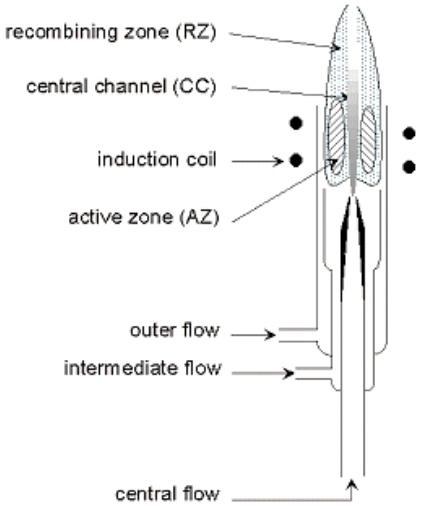
وسط اللهب تتكون قناة داخلها تتجمع ذرات العنصر الطليقة والمتهيجة والتي تبعث طيف الرنين وتتكون منطقتين للحث. وملفوف حول الجزء العلوي للمشعل سلك سميك من النحاس يسمى بسلك الحث الكهربائي فائدته تكوين مجال مغناطيسيي يشار له بالحرف H فائدته يجعل الالكترونات تصطدم بالاركون بشدة وتأينه فيصبح:

$$Ar + e^- \leftrightarrow Ar^+ + 2e^-$$

فالغاز المشتعل هو عبارة عن ايونات Ar^+ الموجبة والالكترونات السالبة ويطلق على هذا المزيج بلازما Plasma ودائما تغذى الشعلة بتيار من Ar.

درجة حرارة الشعلة في المنطقة المجاورة للانابيب هي 10000k وكلما ارتفعت تقل درجة الحرارة وتكون في نهاية اللهب بحدود 6500k ناخذ الاشعاعات الرنين الموجودة فيه عن

طريق الاطوال الموجية للعناصر المختلفة. سميت بالحث المقترن لان مزيج Ar^{-} & e يجب ان تكون في حركة مستمرة وذلك بواسطة مجال مغناطيسي ناتج من سلك النحاس المرتبط بمصدر قوة كهربائية ذات تردد راديوي عالي 27112 MHz وهذا المجال المغناطيسي يؤثر على الشحنات & +- ويجعلها في حركة مستمرة تتصادم مع بعضها وتعطي Ar^{+} & e^{-}.



شكل (13- 3) مصباح جهاز بلازما الحث المزدوج

<u>أنواع النماذج وكيفية تحضيرها للتحليل:-</u>

اولا- تحضير النماذج:-

في طرق الامتصاص الذري أو الانبعاث الذري يعد النموذج بشكل سائل (محاليل) وان تكون بلزوجة معينة يسهل ضخها إلى المصباح أو اخذ حجم معين منها في استخدام الفرن الكرافيتي. وعادة ما تكون النماذج حسب طبيعتها على عدة أنواع منها:-

1. النماذج اللاعضوية السائلة.
2. الفلزات والسبائك.
3. المواد الجيوكيميائية.
4. المواد العضوية المعدنية.

ثانياً- محاليل النماذج أما إن تكون:-

1. مائية ذات اس هيدروجيني معين.
2. غير مائية مثل المذيبات العضوية المختلفة.

والمهم أن لا يتجاوز تركيز العنصر المطلوب تحليله عن 0.5% وفي حالات معينة يصل إلى 5% والمحاليل ذات اللزوجة العالية غير مفضلة لذلك تخفف باستعمال نفس نوع المذيب العضوي المتكون فيه إذ أن تأثير اللزوجة ينعكس على حجم القطيرة المرذذة وبالاتي على حساسية التحليل.

ثالثا– المواد الحاوية على تراكيز ضئيلة جدا للعناصر بحيث تكون اقل من حدود كشف الجهاز لذلك نلجأ إلى:–

1. طريقة التبخير للتركيز.
2. طريقة الاستخلاص بالمذيب.
3. طريق المبادل الايوني للتركيز.

القوس الكهربائي:

أ. القوس الكهربائي المباشر

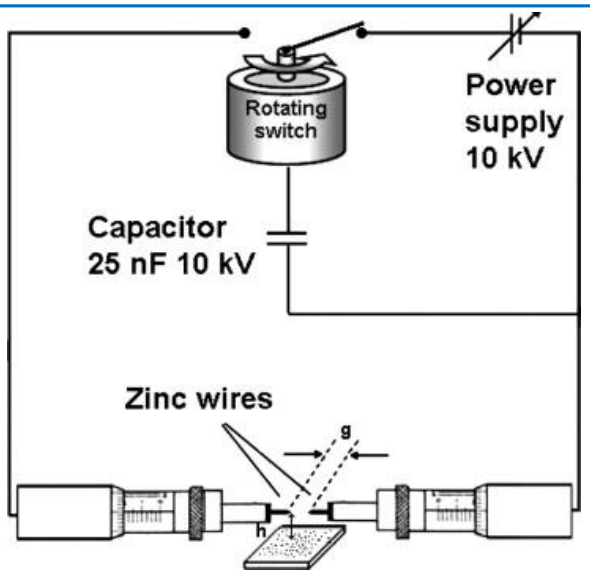
ب. القوس الكهربائي غير المباشر (متبادل)

قوس التيار الكهربائي المباشر: هو عبارة عن ربط قطبين +،– والمسافة بين القطبين تسمى الفجوة الكهربائية 2mm نضع كمية من العينة المراد تحليلها على القطب السالب ثم نمرر فولتية معينة 120 v – 100 وامبيرية 10–30 mA بين القطبين فيحدث تفريغ كهربائي يؤدي إلى طاقة حرارية تصل إلى 5000–6000k تبخر العنصر أو العينة إلى ذرات طليقة متهيجة، وهذه الذرات تبعث شعاع رنين يقاس هذا الشعاع ونعرف العنصر الموجود بالعينة.

قوس التيار الكهربائي غير المباشر (متبادل): نزيد الفولتية 1000v ونزيد التيار ولذلك نضيف محولات ومتسعات كهربائية ونكون قوس كهربائي. القوس الكهربائي المتبادل افضل من المباشر لان التكرارية له افضل وان التيار المتناوب المستخدم فيه العينة تعرض جميعها إلى التيار الكهربائي لذلك يكون تحليل التيار المتناوب افضل.

– الشرارة الكهربائية Electric Spark

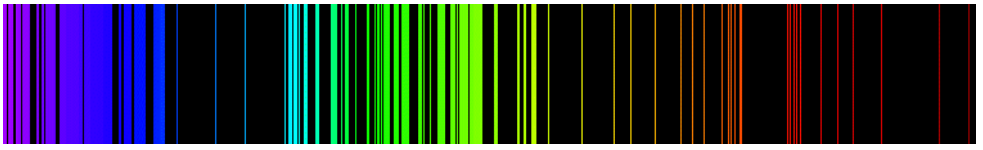
يمكن الحصول على الشرارة الكهربائية باستخدام متسعات للحصول على فولتية تصل إلى 100kv وهذا بدورها مع التيار العالي تعطي تفريغ عالي بدرجة حرارة عالية فتسهل تذرية العينة وتحويلها إلى عناصر ذراتها المتهيجة تعطي اطياف رنينية اشد من تلك التي تعطيها الاقواس الكهربائية المباشرة والمتبادلة.



شكل (13- 4) طريقة الشرارة الكهربائية

راسم الطيف Spectrograph

وهو جهاز يشبه تماما موحد اللون (مونوكروميتر) اي يتكون من فتحة دخول الطيف ثم عدسات موازية ثم موشور أو محزوز ثم عدسات أو مرايا لكن بدل فتحة الخروج توضع كاميرا مزودة بفلم للتصوير الاطياف الاتية من الشرارة الكهربائية أو من القوس الكهربائي وتظهر صورة الاطياف بألوان أما ازرق أو احمر أو غيرها حسب الاطوال الموجية.



شكل (13 – 5) خطوط اطياف الانبعاث

القياس الداخلي

في التحليل الكمي للانبعاث الذري تصور الاطياف اما باستخدام فلم أو لوح فوتوغرافي وهذه الافلام والالواح تختلف بتصنيعها حسب الشدات. فيتم الحصول على نتائج مختلفة الشدات.

$$D = log\frac{P_0}{P} = A$$

وكلما كان العمق الطيفي (الغمق) عالي كلما كانت الشدة عالية كلما كان التركيز للعنصر في العينة كبير.

مثال: تعيين Mg في سبيكة Al

يتم تذويب العينة ونضعها في قنينة حجمية ونكمل الحجم 100ml إلى العلامة ونقيس الشدة ونرسم بيانا لتركيز المحاليل القياسية ضد الشدات. لكن لوكان المنحني من غير علامة خطية فنضيف إلى المحلول القياسي لـ Mg عنصرا آخر يسمى **العنصر الداخلي** (القياس الداخلي) internal standard وليكن هذا العنصر Mo بشكل ملح $(NH_4)_2MoO_4$ وبوزن معين لكل المحاليل القياسية مثلا (2 mg) ويرمز له بـ (IS).

سؤال: لماذا يتم اختيار Mo؟

لان الصفات الطيفية Mo و Mg متشابهتين من حيث الطول الموجي للاشعاع 281.6 nm Mo 279.8 nm Mg فتصرفهما داخل القوس الكهربائي متشابه فيظهر بعد تصوير الطيف شدة كل من Al, Mo, Mg وكل من Mo, Mg فان لهما نفس المعاناة داخل القوس الكهربائي فاذا اخذنا نسبة شدة Mg إلى شدة Mo ووضعناها على الاحداثي العمودي ورسمنا النسبة ضد التركيز فالمنحني يكون مستقيم وليس قوس. فائدة المحلول الداخلي هو التخلص من تقوس منحني المعايرة.

اسئلة الفصل الثالث عشر

1- وضح اسس مطياف الانبعاث الذري وما هي متطلبات الاجهزة الألية.

2- نموذج (1.2456 غرام) يحتوي على صوديوم يذاب ويخفف إلى 100 مل ويحلل باستعمال خط Na (nm590) من المعلومات ادناه جد النسبة المئوية للصوديوم في النمذج الاصلي.

قراءة الانبعاث	تركيز Na (ملغم/ لتر)
24	5 .0
49	0 .1
103	0 .2
120	5 .2
190	0 .4
121	المجهول

3- قارن بين مطياف الانبعاث باللهب ومطياف الامتصاص الذري من حيث الحساسية والمتداخلات والاجهزة.

4- بين ازدياد شدة طيف الانبعاث من المحاليل المحتوية على مذيبات عضوية.

الفصل الرابع عشر
تحاليل الأشعة السينية X- RAY Analysis

مقدمة:

أُكتشفت الأشعة السينية بوساطة Wilhelm Roentgen الذي أطلق عليها اسم الأشعة السينية لأنها في البداية كانت غير معروفة لذلك كانت تسمى أيضاً أشعة رونتجن. واكتشف ماكس فون لاو حيود الأشعة السينية في البلورات ويتراوح مدى الطول الموجي من 0.01 إلى حوالي 10 نانومتر. والأشعة السينية عبارة عن إشعاعات كهرومغناطيسية باطوال موجية قصيرة تنتج عن تباطؤ الإلكترونات عالية الطاقة أو عن طريق التحولات الإلكترونية للإلكترونات في المدار الداخلي للذرات. وتعتمد قوة اختراق الأشعة السينية على الطاقة أيضاً وهناك نوعان من أشعة x

أ- الأشعة السينية الصلبة: التي لها تردد عالٍ ولديها طاقة أكبر.

ب- الأشعة السينية اللينة: والتي لها اختراق أقل وطاقة منخفضة

حيود الأشعة السينية (x-ray diffraction،XRD)

هي تقنية غير تلامسية وغير محطمة للعينة تستخدم لفهم الأطوار البلورية والأشكال البوليمرية المختلفة والخصائص الهيكلية للمواد. وحيود الأشعة السينية: كل مادة بلورية تعطي نمطاً كطبع الاصابع ونفس المادة تعطي دائمًا نفس النمط وفي مزيج من المواد ينتج كل منها نمطه بشكل مستقل عن الآخرين وبالتالي فإن نمط حيود الأشعة السينية لمادة نقية يشبه بصمة إصبع المادة. ويعتمد على تشتت الأشعة السينية بوساطة البلورات.وتتسبب المستويات الذرية للبلورة في تداخل حزمة أشعة سينية الساقطة مع بعضها البعض أثناء خروجها من البلورة وتسمى هذه الظاهرة حيود الأشعة السينية.

وتاريخ اكتشاف الاشعة السينية:

1665 تأثيرات الحيود التي لاحظها عالم الرياضيات الإيطالي فرانشيسكو ماريا جريمالدي.

1868 اكتشاف الأشعة السينية بوساطة العالم الألماني رونتجن.

1901 جائزة نوبل الأولى في الفيزياء إلى رونتجن.

1912 اكتشاف حيود الأشعة السينية بوساطة البلورات عن طريق فون لاو ثم ثبت براغ قانونه 1912 والذي يسمى بقانون براغ.

والأشعة السينية X- ray هي نطاق من الطيف الكهرومغناطيسي electromagnetic radiation وتقع بين أشعة كاما Gamma rays العالية الطاقة والأشعة فوق البنفسجية

ultraviolet rays الأقل في الطاقة. وبالتالي فهي أشعة غير مرئية لأن طاقة فوتوناتها أكبر من طاقة الأشعة المرئية بكثير مما يعني أن ترددها كبير وطولها الموجي قصير.
والأشعة السينية ذات أطوال موجات في نطاق 10^{-8} cm ولذلك يعبر عن طول الموجة في نطاق الأشعة السينية بوحدات الأنجستروم Angstrom(A^o). والمعروف أن الالكترونات تشغل مستويات طاقية أو مدارات مختلفة حول النواة في الذرة.

1s

2s, 2p

3s, 3p, 3d

4s, 4p, 4d, 4f

5s, 5p, 5d, 5f

6s, 6p, 6d, 6f

7s, 7p, 7d, 7f

ولكي ينتقل الأليكترون من المسار 1s إلى المسار 2s فانه يحتاج إلى قدر من الطاقة يتوفر في الأشعة السينية فتمتص الذرة أشعة X– ray فيتوفر قدر من الطاقة يساوي الفرق بين طاقة المسار 1s وطاقة المسار 2s فينتقل الأليكترون جراء هذه الاثارة.

فوائد طيف الحيود السيني

1– تقوم بقياس متوسط التباعد بين طبقات أو صفوف الذرات

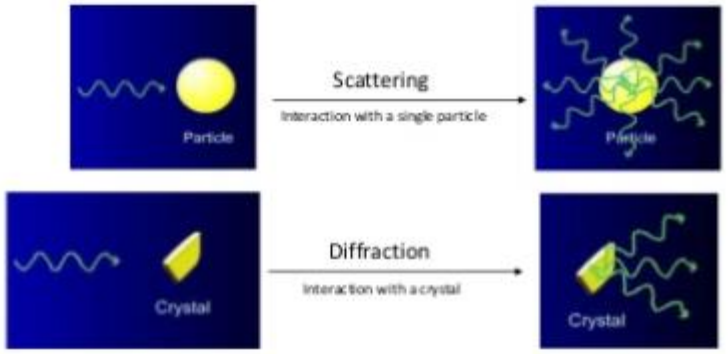
2– تحديد اتجاه بلورة الواحدة

3– البحث عن التركيب البلوري لمادة غير معروفة

– تقوم بقياس الحجم والشكل والشد الداخلي للمناطق البلورية الصغيرة

تعريف الحيود

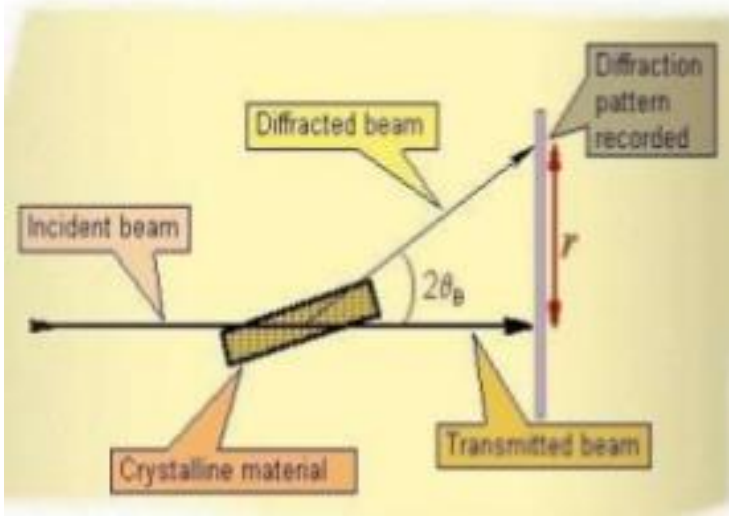
يمكن تعريف الحزمة المنقسمة على أنها حزمة مكونة من عدد كبير من الأشعة المتناثرة التي تعزز بعضها البعض.



شكل(14–1) تفاعل الانتثار من تفاعل حيود جسيم واحد مع بلورة

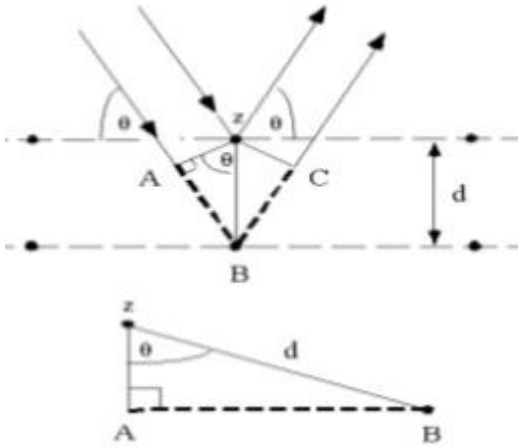
ما حيود الأشعة السينية؟

يعتمد حيود الأشعة السينية على التداخل البناء للأشعة السينية أحادية اللون وعينة بلورية. ويتم إنشاء هذه الأشعة السينية بوساطة أنبوب أشعة الكاثود ويتم ترشيحها لإنتاج إشعاع أحادي اللون وتوازيها للتركيز وتوجيهها نحو العينة. وينتج عن تفاعل أشعة الحادث مع العينة تداخلًا بناءً عندما تفي الظروف بقانون براغ.



شكل(14–2) جهاز حيود الاشعة السينية

قانون براغ Bragg's Law



شكل (14-3) مخططات قانون براغ

من الاشكال أنفة الذكر لكل من السير وليم وهنري يراغ يمكن نستنتج قانون براغ:

لا تحدث الأشعة السينية إلا عندما

$n \lambda = AB + BC$

$AB = BC$

$n \lambda = 2AB \sin \theta = A$

$AB = 2d \sin \theta$

$\lambda = 2d \sin \theta$

ويمكن أعادة كتابة قانون براغ:

$\lambda = 2 \sin\theta \, d / n$

وهذا انعكاس لأي ترتيب باعتباره انحرافًا من الدرجة الأولى عن المستويات سواء كانت حقيقية أو وهمية ومتباعدة على مسافة n^1 من التباعد السابق:

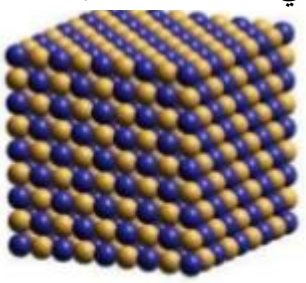
Set d' = d / n

ويمكن اعتبار انعكاس الترتيب n من (hkl) مستويات التباعد d بمثابة انحراف من الدرجة الأولى من مستوى (nh, nk, nl) للتباعد d' = d /n

أساسيات علم البلورات Basics of crystallography

يتم ترتيب الذرات في نمط منتظم وهناك أصغر عنصر حجم يصف البلورة بالتكرار في ثلاثة أبعاد. ويسمى هذا العنصر الأصغر حجمًا خلية الوحدة. وتتكون البلورات من

مستويات ذرات متباعدة بمسافة d ولكن يمكن حلها في العديد من المستويات الذرية كل منها بمسافة d مختلفة. وتوصف أبعاد خلية الوحدة بثلاثة محاور: أ ، ب ، ج والزوايا بينها α و هي ثوابت الشبكة التي يمكن تحديدها بواسطة XRD.



Lattice

شكل(14-4) الشبكة بلورية

التحليل بواسطة حيود الأشعة Analysis by X- Ray Diffraction

اي ان التحليل بوساطة الحيود بأشعة X اذ ان أشعة X ذات اطوال موجية صغيرة وذات طاقة عالية وهي موجات كهرومغناطيسية وبنفس طبيعة الضوء وبالاتي ممكن حيود هذه الأشعة:

$$n\lambda^{-} = d^{-}\sin\theta^{-}$$

λ^{-} = طول الموجة للأشعة السينية

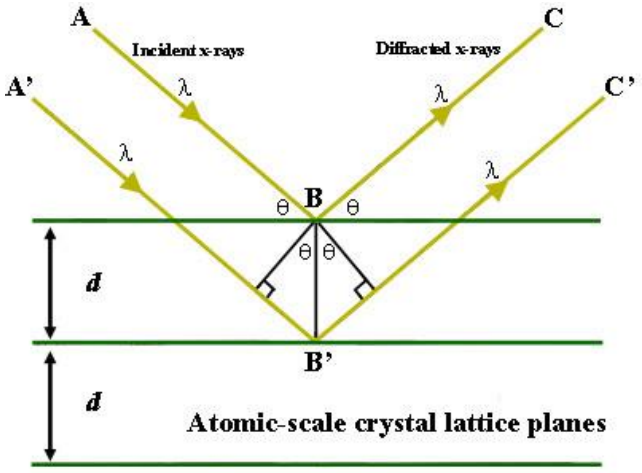
d^{-} = المسافة البينية

θ^{-} = زاوية الحيود

اي ان λ & d مقدرة بالـ A^{0}.

بعض البلورات ذات مستويات ذرية منتظمة تفصل بينهما فسح أو مسافات بينية. ويحصل الحيود عندما يكون هناك عدد صحيح أو متكامل من اطوال الموجات nλ اي ان (n = 1، 2، 3،... الخ) بين الأشعة المنحرفة لمستويات ذرية متجاورة. من قياس الانحراف فيمكن قياس المستويات البلورية وعليه سيكون مجموع المسار وبالاتي معرفة العناصر المكونة له

$$2e = n\lambda = 2dsin\,\theta\ Bragg's\ law$$

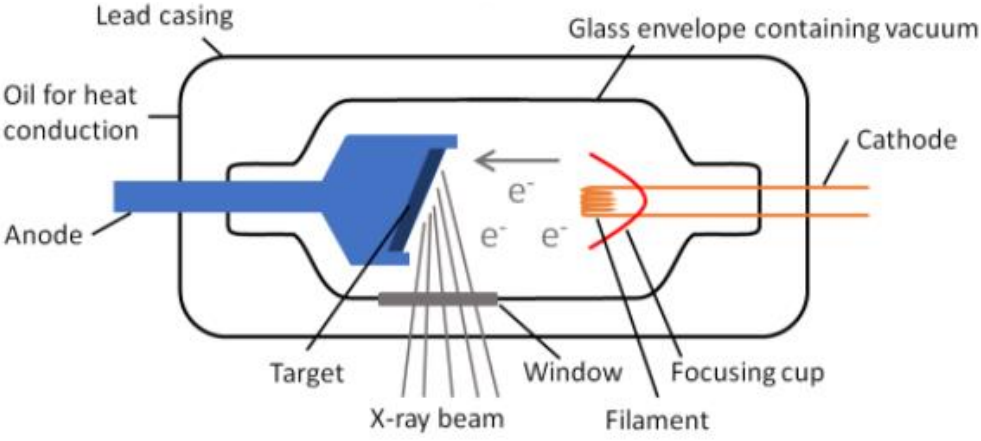


شكل (14–5) مستويات البلورية حسب قانون براغ

جهاز انتاج الاشعة السينية

يتكون جهاز من مصدر الأشعة السينية ومن مرشح او بلوري أحادي اللون وأجهزة الكشف التيتتكون من أ – طرق التصوير ب – طرق المواجهة.

ويتم نتاج الأشعة السينية عندما يتم تسريع الجسيمات المشحونة. وتتولد عندما تصطدم الإلكترونات عالية السرعة بهدف معدني مثل Cu Al، Mo. ومصدر الإلكترونات خيوط W الساخن. وجهد تسارع عالي بين الكاثود (W) والأنود وهدف معدني. والأنود عبارة عن كتلة من النحاس مبردة بالماء تحتوي على المعدن المستهدف المطلوب.



$$X-\ rays, \Delta E = E_{1s} - E_{2s}$$

شكل (14–6) انبوب انتاج الأشعة السينية

ومن أجل الحصول على حزمة ضيقة ومركزة من الأشعة السينية يُسمح للأشعة السينية الناتجة عن المادة المستهدفة بالمرور عبر ألواح معدنية معبأة بشكل وثيق ومفصولة بفجوة صغيرة. ويمتص الكوليمتر جميع الأشعة السينية باستثناء الحزمة الضيقة التي تمر بين الفجوة.

وعندما ينتقل ألكترون من مستوى طاقة عالى إلى مستوى طاقة منخفض ينطلق فوتون يحمل طاقة تساوي فرق الطاقة بين المستويين ΔE.

وتعتمد طاقة الفوتون المنبعث على الفرق بين مستويات الطاقة في الذرة ومن الممكن أن تكون طاقة الفوتون الناتج في مدى الأشعة المرئية فينتج ضوء مرئي. وكما يمكن ان تكون طاقة الفوتون المنبعث في المدى الغير المرئي فينتج أشعة غير مرئية.

والخلاصة أن ما يحدد طاقة الفوتون المنبعث من الذرة هو الانتقال الألكتروني بين مستويات الطاقة.

وعندما يصطدم الفوتون المنبعث بذرة أخرى فإن تلك الذرة تمتص طاقة الفوتون من خلال أحد ألكتروناتها لينتقل الألكترون من مستوى طاقة منخفض إلى مستوى طاقة أعلى أي يحدث له اثارة excitation لانه امتص طاقة اضافية ولكي يمتص الإلكترون طاقة الفوتون يجب أن تكون طاقة الفوتون هذه تساوي فرق مستويات الطاقة التي سينتقل لها الإلكترون كما ذكرنا أي تكون كافية لنقلة إلى المستوى الطاقي الأعلى المتاح له وذلك يعود إلى طبيعة الذرة وبنية الذرة واذا اختل هذا الشرط فلن يحدث امتصاص الفوتون من قبل الذرة.

ويمكن تلخيص مراحل انبعاث الفوتون الضوئي من الذرة على النحو الاتي:-

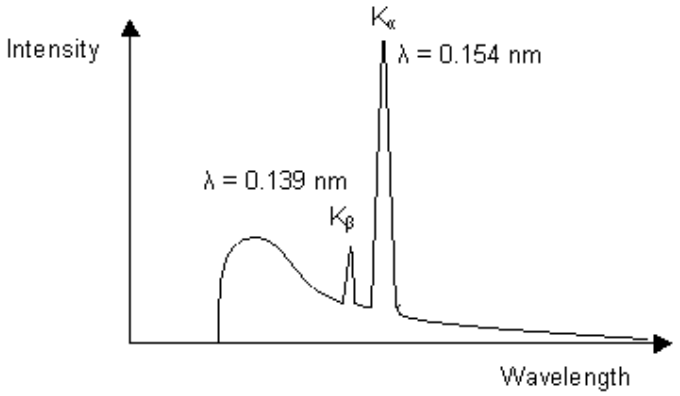
1. اصطدام أليكترون معجل مع الذرة يعمل على اثارتها.
2. ينتقل الأليكترون من مستوى طاقة منخفض إلى مستوى طاقة أعلى.
3. يعود الأليكترون إلى مستوى الطاقة المنخفض وتنطلق فوتونات ضوئية.

طيف الأشعة السينية

عند اصطدام شعاع من الالكترونات بمادة كهدف فأن الالكترونات لهذا الاشعاع تتباطأ بصورة عامة بفعل تفاعلها المتبادل مع الكترونات ذلك الهدف. والطاقة المفقودة بسبب هذا التباطؤ تظهر بشكل طيف انبعاث مستمر للأشعة السينية ذي قمة صغرى حادة عند λ_{min} (اقصى تردد) وتمثل اقصى طاقة للالكترونات في الاشعاع ونحسب الموجة المعزولة بالمعادلة الاتية:

$$\lambda_{min} = \frac{hC}{V} = \frac{12400}{V}$$

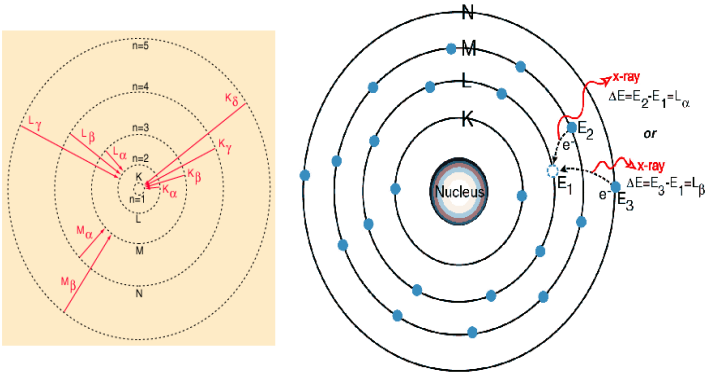
اذ ان h = ثابت بلانك، C = سرعة الضوء في الفراغ V = التعجيل الجهدي في انبوب الأشعة السينية بالفولت. شدة الأشعة الناتجة تعتمد على الفولتية المسلطة وتكون الأشعة مستمرة.



شكل (14–7) طيف الانبعاث الأشعة السينية

نستنتج مما سبق أن الذرة هي المسؤولة عن انتاج الأشعة السينية ولكن يختلف الأمر عنة في حالة الأشعة المرئية اذ انه يتم إثارة إلكترونات المدارات الداخلية للعنصر المنتج للأشعة السينية بينما في الأشعة المرئية يتم اثارة الكترونات المدارات الخارجية.

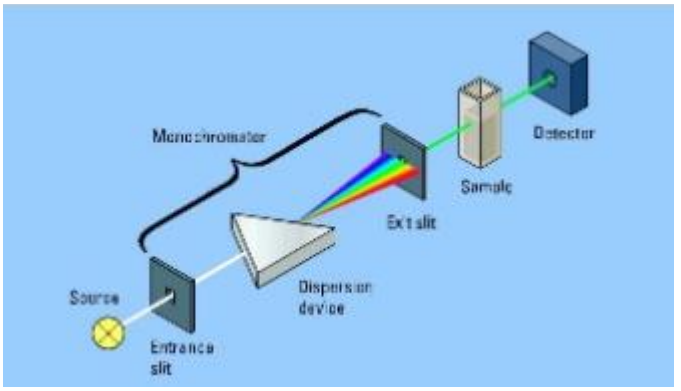
قسم من الالكترونات التي لها طاقة عالية والتي تستطيع اختراق الذرة وكافية لان تقلع e من المجال k في الذرة فان الالكترونات من مجال L أو M تنزل إلى k وتفقد جزء من طاقتها وهذه الطاقة تكون على شكل أشعة X وتكون لامعة (تظهر شكل خطوط لامعة مميزة) .



شكل (14– 8) ميكانيكية انتاج الأشعة السينية من الذرات

موحد اللون monochromatore

هو جهاز بصري يرسل نطاقًا ضيقًا يمكن اختياره ميكانيكيًا من الأطوال الموجية للضوء أو الإشعاع الآخر المختار من نطاق أوسع من الأطوال الموجية المتاحة عند المدخل.



شكل(14–9) موحد اللون

وتقسيم أحادي اللون على نطاق واسع إلى قسمين 1. مرشحات التداخل 2. أحادية اللون الكريستالي وممكن تقسيم أحادي اللون البلوري مرة أخرى إلى قسمين وقد تكون حزمة الأشعة السينية أحادية اللون جزئيًا عن طريق إدخال مرشح مناسب. والمرشح هو نافذة من مادة تمتص الإشعاع غير المرغوب فيه ولكنها تسمح بمرور إشعاع الطول الموجي المطلوب. وتحتوي مرشحات التداخل على عدة طبقات ضوئية موضوعة على ركيزة زجاجية أو كوارتز شفاف. ويتم تحديد خصائص الأداء المحددة للمرشح بوساطة سمك الطبقات الضوئية.

وتتكون أحاديات اللون من مادة بلورية مناسبة موضوعة في حزمة الأشعة السينية بحيث تفي زاوية المستويات العاكسة بمعادلة براج للطول الموجي المطلوب حيث يتم تقسيم الحزمة إلى مكونات ذات أطوال موجية مكونة من البلورات المستخدمة في أحادي اللون مثل كلوريد الصوديوم وفلوريد الليثيوم والكوارتز .. إلخ. يمكن استخدام الكرافيت للتحلل الحراري للنطاق العريض والسيليكون للنطاق الضيق.

أجهزة الكشف عن الأشعة السينية

هي أجهزة تستخدم لقياس التدفق والتوزيع المكاني والطيف وخصائص أخرى للأشعة السينية. ويمكن تقسيم أجهزة الكشف إلى فئتين رئيستين: أجهزة الكشف عن التصوير مثل لوحات التصوير وفيلم الأشعة السينية (فيلم فوتوغرافي) ويتم استبدالها في الغالب بأجهزة

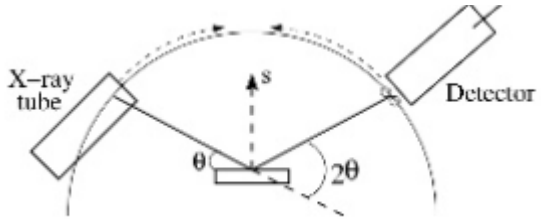
رقمية مختلفة مثل لوحات الصور أو أجهزة الكشف المسطحة وأجهزة قياس الجرعة تسمى طرق العداد.

أنواع أجهزة الكشف detectores

يمكن قياس شدة الأشعة السينية وتسجيلها عن طريق:

1- طرق التصوير الفوتوغرافي. 2- طرق العداد. أ) عداد أنبوب كايكر – مولر. ب) العداد النسبي. ج) كاشف الوميض. د) أجهزة الكشف شبه الموصلية.

كلا النوعين من الطرق تعتمد على قدرة الأشعة السينية على تأين المادة وتختلف فقط في المصير اللاحق للإلكترونات الناتجة عن عملية التأين.



شكل(14-10) الكاشف

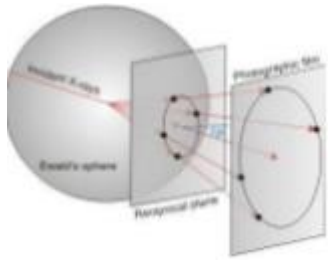
طرائق االتصوير لفوتوغرافية photographic method

لتسجيل موضع وكثافة حزمة الأشعة السينية يتم استخدام فيلم مستوي أو أسطواني. ويتم تطوير الفيلم بعد تعريضه للأشعة السينية ويتم التعبير عن اسوداد الفيلم المطور من حيث وحدات الكثافة D المعطاة بواسطة

$$D = \log I_0 / I$$

I= شدة النفاذية ، D = الطاقة الكلية للفلم ويقاس بالديسميتر

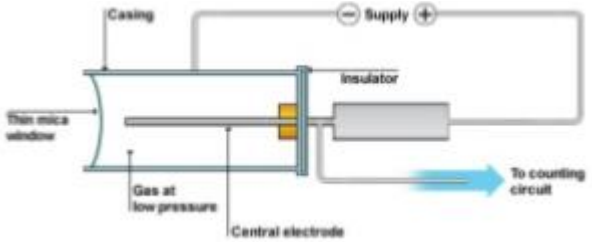
وإجمالي الطاقة التي تسبب اللون الأسود من الفيلم يقاس بمقياس الكثافة. وتستخدم طريقة التصوير الفوتوغرافي بشكل أساسي في دراسات الحيود لأنها تكشف عن نمط الحيود بأكمله على فيلم واحد. والعيب فيه انه يستغرق وقتا طويلا ويستخدم التعرض لعدة ساعات.



شكل(14-11) جهاز التصوير الفوتوغرافي

أ) أنبوب كايكر

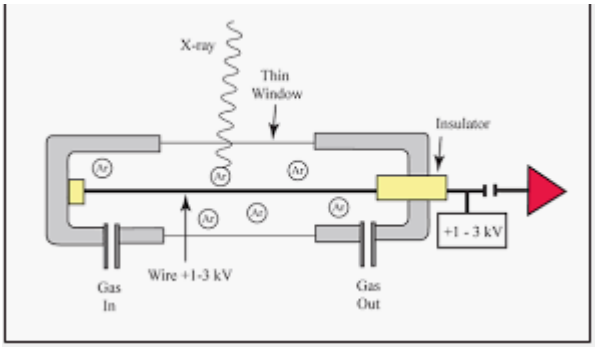
ويكون مملوء بغاز خامل مثل الأركون ويتم الحفاظ على أنود السلك المركزي عند جهد إيجابي من 800 إلى 1500 فولت. ويتم تسريع الإلكترون من خلال التدرج المحتمل ويسبب تأين عدد كبير من ذرات الأركون مما يؤدي إلى إنتاج سيل من الإلكترونات التي تنتقل نحو الأنود المركزي.



شكل(14–12) انبوب كايكر

ب) العداد النسبي proportional counter

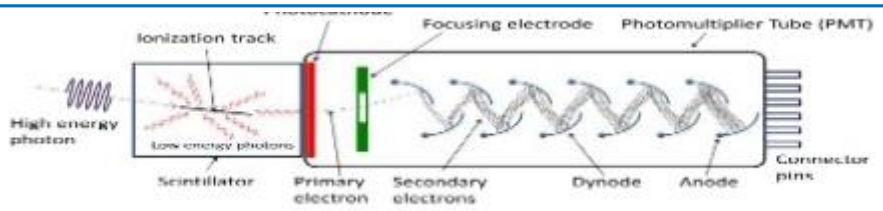
ويكون مشابه لعداد أنبوب كايكر وهو مملوء بغاز أثقل مثل الزينون والكريبتون ويفضل الغاز الأثقل لأنه يتأين بسهولة ويعمل بجهد أقل من عداد كايكر. والوقت الميت قصير جدًا (~ 0.2 µs) ويمكن استخدامه لحساب معدلات عالية دون أخطاء كبيرة.



شكل(14–13) العداد النسبي

ج) الكاشف الوميضي scintillation detector

توجد بلورات يوديد الصوديوم كبيرة مفعلة بكمية صغيرة من الثاليوم وعندما تسقط الأشعة السينية على البلورة تنبعث نبضات الضوء المرئي والتي يمكن اكتشافها بواسطة أنبوب مضاعف للصور ومفيدة للقياس الأشعة السينية ذات الطول الموجي القصير وتشتمل البلورات المستخدمة في أجهزة الكشف عن الوميض على يوديد الصوديوم والأنثراسين والنفتالين.

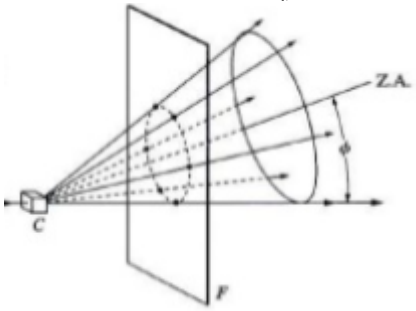


شكل(14-14) الكاشف الوميضي

هناك العديد من طرائق حيود الاشعة التي تستخدم بشكل عام لفحص الهياكل الداخلية والهياكل البلورية للمركبات الصلبة المختلفة:

1- طريقة لاو للارسال transmission Laue method

استخدم أسلوب Laue في تجاربه الأولى الإشعاع الأبيض من جميع الأطوال الموجية الممكنة وسمح لهذا الإشعاع بالسقوط على بلورة ثابتة. وحوّلت البلورة شعاع الأشعة السينية وأنتجت نمطًا جميلًا جدًا من البقع التي تتوافق تماماً مع التناظر الداخلي للبلورة.



شكل(14-15) transmission Laue method

2- طريقة الانعكاس الخلفي back- reflection Laue method

ويتم وضع الفيلم بين مصدر الأشعة السينية والبلورة وتسجيل الحزم التي تنحرف في اتجاه خلفي وتحديد جانب واحد من مخروط انعكاسات Laue بواسطة الحزمة المرسلة. يتقاطع الفيلم مع المخروط حيث تقع بقع الحيود بشكل عام على القطع الزائدة.

وتشبه هذه طريقة الإرسال ومع ذلك فإن الانعكاس العكسي هو الطريقة الوحيدة لدراسة البلورات الكبيرة المطلوبة.

سلبيات طريقة لاو disadvantage of Laue method

1- يتطلب بلورات كبيرة.

2- تحديد اتجاه الكريستال من موضع البقع ويمكن فهرسة كل بقعة أي تنسب الى مستوى معين باستخدام مخططات خاصة.

3- يُستخدم مخطط كايكر لأنماط الانعكاس الخلفي ومخطط Leonhardt لأنماط الإرسال.

4- يمكن أيضًا استخدام تقنية Laue لتقييم الكمال البلوري من الحجم والشكل.

جهاز انتاج الأشعة السينية X- ray production

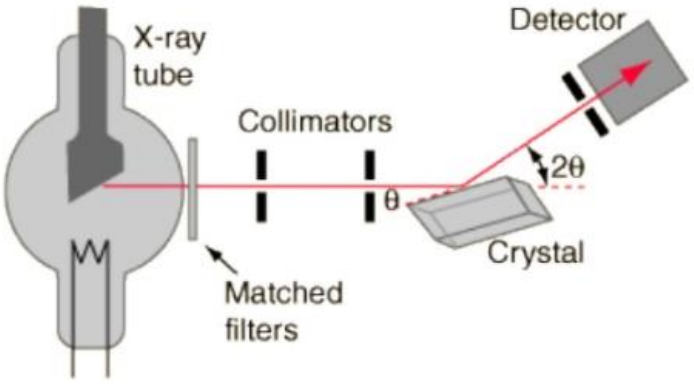
يتكون جهاز انتاج الأشعة السينية من الكترود electrode والذي يعتبر قلب جهاز انتاج الأشعة السينية. ويتكون الأليكترود من كاثود cathode وأنود anode داخل أنبوبة زجاجية مفرغة من الهواء.

وأما الكاثود فيتكون من فتيلة تسخين متصلة بتيار كهربائي وعندما يمر التيار الكهربائي خلال الفتيلة ترتفع درجة حرارتها تدريجياً إلى أن تصل إلى درجة الحرارة التي تمكن إلكترونات تلك الفتيلة من الانبعاث من سطحها فتنبعث الأليكترونات من سطح الكاثود وتنطلق نحو الأنود.

وأما الأنود فهو عبارة عن قرص من التنكستين tungsten مشحون بشحنة موجبة تعمل على جذب الألكترونات المنبعثة من الكاثود.

تطبيق فرق الجهد العالي بين الكاثود والأنود يساعد على تعجيل الإلكترونات لتنطلق بقوة في اتجاه الأنود وعندما تصطدم الألكترونات بذرات التنجستن التي تشكل مادة الأنود في المدارات الداخلية القريبة من نواة الذرة والتي تكون طاقتها كبيرة يقوم ألكترون في مدار أعلى بملأ الفراغ الناتج مما يسبب انطلاق فوتون يحمل طاقة تساوي فرق الطاقة بين المستويين، ولأن ΔE هنا تكون كبيرة فإن الفوتون الناتج يكون فوتون الأشعة السينية.

مطياف براغ للأشعة السينية Bragg's X-ray Spectrometer



شكل(14-16) مطياف براغ

A = كاثود , B– B' = شق قابل للتعديل , C = بلورة , E, = غرفة التاين

يتم توصيل لوحة واحدة من غرفة التأين بالطرف الموجب لبطارية HT بينما يتم توصيل الطرف السالب بالمقياس الكهربائي الرباعي (يقيس قوة تيار التأين)

عمل الجهاز

يتم تركيب البلورة بحيث تكون درجة الزاوية صفرا ويتم ضبط غرفة التأين لاستقبال الأشعة السينية ويُسمح للبلورة وغرفة التأين بالتحرك بخطوات صغيرة. والزاوية التي من خلالها تحريك الغرفة هي ضعف الزاوية التي من خلالها تدوير البلورة. والحصول على طيف الأشعة السينية من خلال رسم بياني بين تيار التأين والزاوية الخاطفة θ. ويتم الحصول على القمم المقابلة لانحراف براغ. والحصول على زوايا مختلفة لإلقاء نظرة خاطفة على الترتيب باستخدام القيم المعروفة لـ λ و n ويمكن قياسها من القيمة المرصودة.

تعيين تركيب البلورة

يتم تدوير البلورة وتصنع الأشعة السينية لتعكس من مستويات شعرية مختلفة تُقاس الانعكاسات المكثفة بمطياف براغ ويتم تسجيل الزوايا الخاطفة لكل انعكاس وثم عند تطبيق براغ يمكن الحصول على نسبة معادلة التباعد الشبكي لمجموعات مختلفة من الاشعاعات ستكون النسبة مختلفة بالنسبة للبلورات المختلفة وتتم مقارنة النسبة التي تمت ملاحظتها تجريبياً مع النسبة المحسوبة.

الطرائق الاخرى للتحليل بالاشعة السينية

1– التحليل بامتصاص الأشعة السينية analysis by x– ray absorption

الاختلاف الوحيد بين امتصاص أشعة X وبقية الامتصاصات هي ان أشعة X هي ظاهرة ذرية اما امتصاصات IR, VIS, UV فهي امتصاصات جزيئية. وان قانون بير ينطبق ايضا على أشعة X. عادة مجال الاستعمال لأشعة X عندما يكون عنصر ذو وزن ذري اعلى من العناصر (الاوزان الذرية) المكونة للمواد الاخرى. فمثلا لدينا بنزين (H & C) ونضيف اليه Pb وزنة عالي لبقية عناصر البنزين فكلما كان الفرق كبير كلما كان القياس اضبط. وكما يمكن تعيين Cl في المركبات الهيدروكاربونية كمثال على ذلك.

ونستفيد من أشعة X في التحليل النوعي والكمي فهي أشعة كهرومغناطيسية اي يمكن ان ينبعث ويحيد ويمتص من قبل المركبات مثل أشعة الـ UV لذلك يمكن ان تستخدم في التحليل الكمي والنوعي ويجب ان يكون الوزن الذري للذرة المراد تقديرها اكبر من بقية الاوزان الذرية الاخرى للذرات الموجودة في النموذج مثل تقدير الرصاص كرباعي اثيل

الرصاص TEL في الكازولين أو البنزين وذلك بامتصاصه كذرة تقبله ويكون بمقدار 250 مرة بقدر امتصاص الكاربون للشعاع نفسه.

ان وجود كمية من الكبريت يؤثر على امتصاص الرصاص لذا يجب تعيين الكبريت بصورة منفصلة قبل الرصاص. ان هذه الطريقة توفر دقة precision 0.1% ± لنماذج روتينية. كذلك Cl اثقل من O, C, H فيمكن ان يقدر بواسطة أشعة X الصادرة من النظير ^{55}Fe فيكون امتصاص Cl 102um بالمقارنة 0.2، 4.5، 11.4، لكل من H وC وO على التوالي فتكون نتائج التحليل دقيقة ونسبة الخطأ اقل من 0.01.

2- التحليل بواسطة الحافة Absorption Edge Analysis

طريقة اخرى للتحليل النوعي والكمي للمادة بتطبيق امتصاص الحافات بما ان امتصاص عنصر في نموذج يكون على اوجة في طول موجي اقل بقليل من طول موجة امتصاص حافاته.

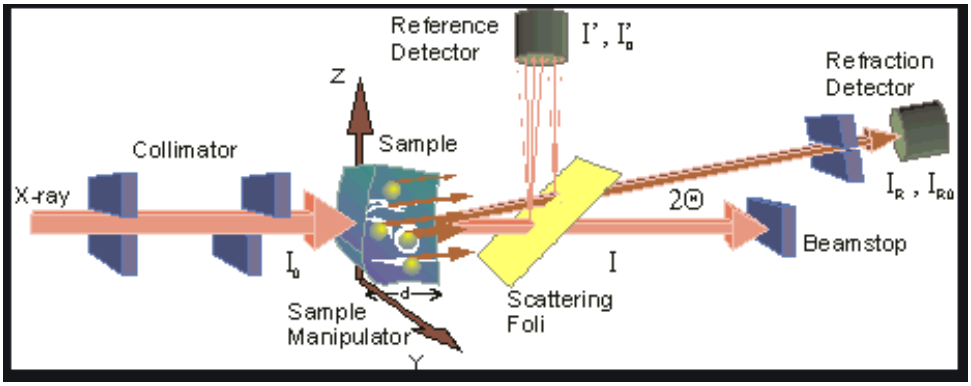
3- التحليل بأنبعاث اشعة اكسX- ray emission spectrometer

يستخدم مطياف الأشعة السينية في معرفة العناصر المكونة للمواد والروابط الكيماوية بين الذرات، وذلك عن طريق اثارة المواد بطيف الأشعة السينية.

كان العالم السويدي كارل مان جورج (الحاصل على جائزة نوبل عام 1924) أحد الرواد في تطوير طيف انبعاث أو وميض الأشعة السينية، اذ قام بقياس الأطوال الموجية للأشعة السينية للعديد من العناصر بدقة فائقة وذلك باستخدام أليكترونات عالية الطاقة كمصدر لاثارة العناصر.

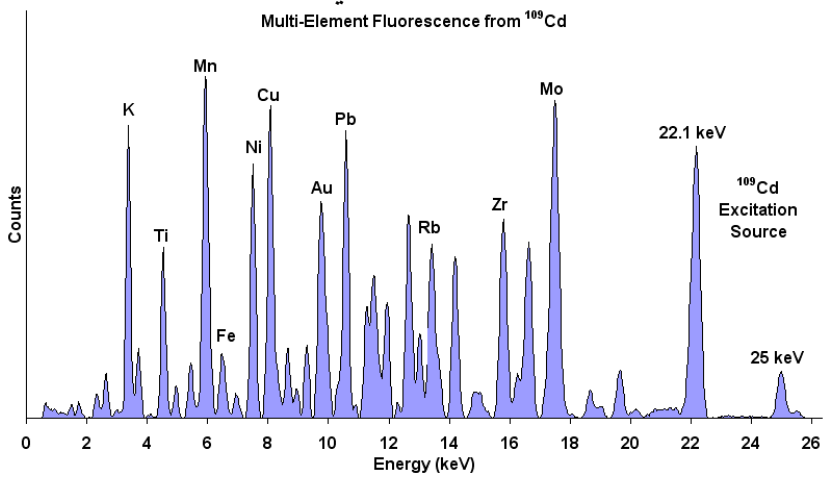
وعند مرور الأشعة السينية على المادة المراد تحليلها، فان طاقة الأشعة المنبعثة تكون أقل بالمقارنة بطاقة الأشعة الساقطة على العينة، وهذا الفقد في الطاقة للأشعة المنبعثة من العينة تستخدم في حدوث اثارة داخلية للنظام الذري. ويوجد قدر كاف من الطاقة في منطقة الأشعة السينية لاحداث تغيرات في حالة الأليكترونات مثل انتقال الأليكترونات بين المدارات على العكس من المنطقة البصرية والتي يرجع فقد طاقتها إلى حدوث تغيرات دورانية أو اهتزازية للجزيء.

فعلى سبيل المثال في منطقة الأشعة السينية الناعمة جداً ultra soft X- ray region (أقل من 1keV) فان اثارة مجال بلوري يسبب فقد أكبر في الطاقة.

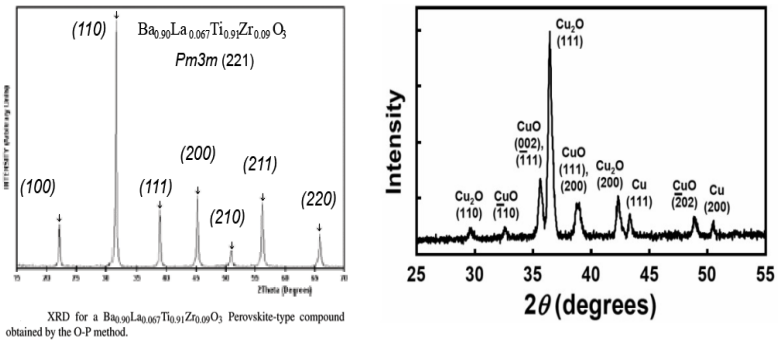


شكل (14-17) رسم تخطيطي لمطياف انبعاث الأشعة السينية

عندما تقابل طاقة الأشعة السينية طاقة ربط الألكترونات القريبة من النواة يحدث حالة من التشتت تسمى photon- in- photon- out process، وهذه الحالة من التشتت تزداد بشكل متأرجح ومتسع. وهذا النوع من طيف انبعاث الأشعة السينية يعرف بتشتت الأشعة السينية الغير المرنة المتأرجحة resonant inelastic X- ray scattering (RIXS). بسبب الاتساع والفصل بين الطاقات المدارية للأليكترونات القريبة من النواة في الذرات فانه من الممكن اختيار ذرة معينة بحيث تكون بسيطة في عدد مداراتها حتى يسهل تتبعها.



شكل (14-18) طيف التحليل الكمي النوعي بواسطة جهاز الأشعة السينية المتفلور XRF للعناصر في العينة الجيولوجية كمثال.



شكل (14- 19) نماذج لاطياف الأشعة السينية نوع XRD

اسئلة الفصل الرابع عشر

1- لا تستخدم المرايا والعدسات في المنظومة البصرية لجهاز الأشعة السينية.

2- إذا كان أعلى تردد لفوتون الأشعة السينية المنبعثة من أنبوبة توليد الأشعة السينية H (4×10^{18}) فإن فرق الجهد الذي يجب أن يطبق على قطبي الأنبوبة v (16.5×10^{3}).

3- بتصويب حزمة من الأشعة السينية ذات تردد معروف سلفا على قطعة من الجرافيت وبدراسة شدة الأشعة السينية المتشتتة من الجرافيت وجد أن طولها الموجي يزداد علل ذلك.

4- صدرت أشعة سينية من هدف صدمته الكترونات متسارعة تحت فرق جهد v (1×10^{5}) فيكون اقصر طول موجي محتمل للأشعة السينية هو m (12375×10^{-11}) وضح ذلك.

5. توجد نوعان من اجهزة طيف الأشعة السينية

6. الطيف الخطي للأشعة السينية يتوقف على .....أو التركيب الذري لمادة الهدف.

7. صدرت اشعة سينية من هدف صدمته الكترونات متسارعة تحت فرق جهد مقداره(1×10^{5}) . احسب اقل طول موجي محتمل للاشعة السينية الناتجة.

8. طاقة فوتونات الطيف الخطي للاشعة السينية تتوقف على:

a. درجة تسخين الفتيلة

b. نوع مادة الهدف

c. طاقة الالكترون التي تصطدم الهدف

d. فرق الجهد المطبق بين الانود والكاثود في انبوبة التوليد.

9. قارن بين مبدأ توليد الاشعة السينية ومبدأ الانبعاث الكهروضوئي.

10. للأشعة السينية نوعان من الطيف، اذكر العوامل التي يتوقف عليها كل منها.

11. تستخدم الأشعة السينية المتفلورة في التشخيص النوعي للعناصر فقط فسر ذلك؟

12. تسمى الأشعة السينية المنبعثة من النموذج بالأشعة السينية _____.

13. اكتب قانون براغ.

الفصل الخامس عشر
مطياف الرنين النووي المغناطيس
Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

مقدمة:

الرنين المغناطيسي النووي NMR هي تقنية مطيافية تعتمد على امتصاص الإشعاع الكهرومغناطيسي في منطقة التردد الراديوي من 4 إلى 900 ميكاهرتز بوساطة نوى الذرات. ويعد مطياف الرنين المغناطيسي النووي البروتوني أحد أقوى الأدوات لتوضيح عدد الهيدروجين أو البروتون في المركب. ويتم استخدامه لدراسة مجموعة متنوعة من النوى:

^{1}H , ^{13}C , ^{15}N, ^{19}F, ^{31}P.

الرقم الكمي المغزلي(I) المرتبط بالعدد الذري والكتلي للنواة والعناصر ذات الكتلة الفردية أو العدد الذري الفردي لها خاصية "الدوران" النووي.

الجدول(15-1) الدوران المغزلي لبعض الانوية

I	Atomic Mass	Atomic Number	Examples	
Half-integer	Odd	Odd	^{1}H (1/2)	NMR active
Half-integer	Odd	Even	^{13}C (1/2)	
Integer	Even	Odd	^{2}H (1)	
Zero	Even	Even	^{12}C (0)	Not NMR active

وعلى مدار الخمسين عامًا الماضية أصبح التحليل الطيفي بالرنين المغناطيسي النووي الذي يشار إليه عادةً باسم NMR التقنية البارزة لتحديد بنية المركبات العضوية من بين جميع الطرائق الطيفية وهي الطريقة الوحيدة التي يُتوقع عادةً إجراء تحليل كامل لها وتفسيرها للطيف بأكمله. تأتي المبادىء النظرية وراء الرنين المغناطيسي النووي من دوران النواة وتولد مجالًا مغناطيسيًا. بدون مجال مغناطيسي خارجي مطبق تكون الدورات النووية عشوائية في الاتجاهات ولكن عند وجود مجال مغناطيسي خارجي (B_o) فإن النوى تصطف إما مع أو ضد المجال المغناطيس الخارجي. وعلى الرغم من الحاجة إلى كميات أكبر من العينة مقارنة بالتحليل الطيفي الشامل أن NMR غير مدمر للنماذج المستخدمة في التحليل. وباستخدام الأدوات الحديثة يمكن الحصول على بيانات جيدة من

العينات التي يقل وزنها عن مليغرام. لكي تنجح في استخدام NMR كأداة تحليلية من الضروري فهم المبادئ الفيزيائية التي تستند إليها هذه التقنية.

الرنين النووي المغناطيسي Nuclear Magnetic Resonance

تحتوي نوى العديد من النظائر الأولية على دوران مميز (I). وتحتوي بعض النوى على دورات متكاملة على سبيل المثال (.... I = 1, 2, 3 .) وبعضها يحتوي على دورات جزئية على سبيل

(I = 1/2, 3/2, 5/2 ....) وبعضها لا يحتوي على دوران (I =0) مثل

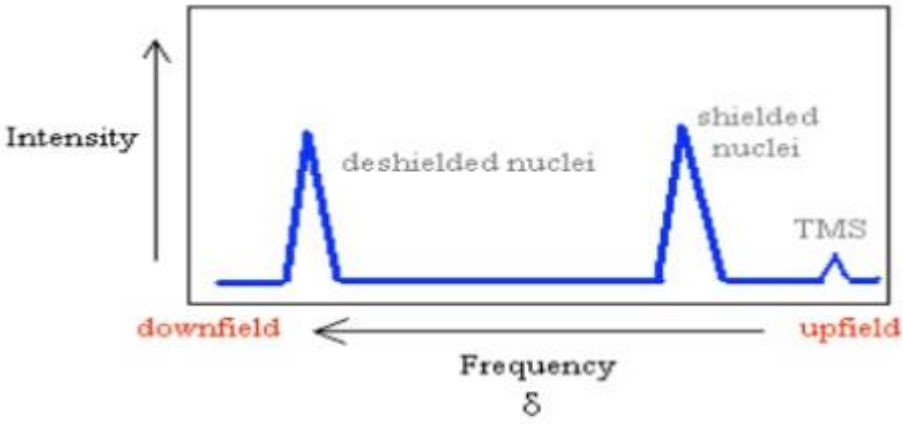
(^{12}C, ^{16}O, ^{32}S, ...) . والنظائر ذات الأهمية الخاصة والاستخدام في تشخيص المركبات العضوية وكلها لها هي I = 1/2 نظرًا لأن تحليل حالة الدوران هذه واضح إلى حد ما. فإن مناقشتنا حول NMR ستقتصر على هذه وغيرها من النوى التي يكون لها I = 1/2

والتردد الراديوي المنبعث يتناسب طرديا مع قوة المجال المطبق.

$$\nu = \frac{\gamma B_o}{2\Pi}$$

B_o : المجال المغناطيسي الخارجي الذي يختبره البروتون

γ : النسبة المغناطيسية (النسبة بين اللحظة المغناطيسية النووية والعزم الزاوي)

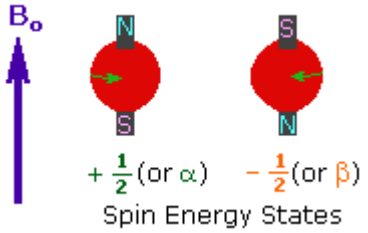


شكل(15-1) الطيف المغناطيسي النووي

الميزات التالية تؤدي إلى ظاهرة NMR

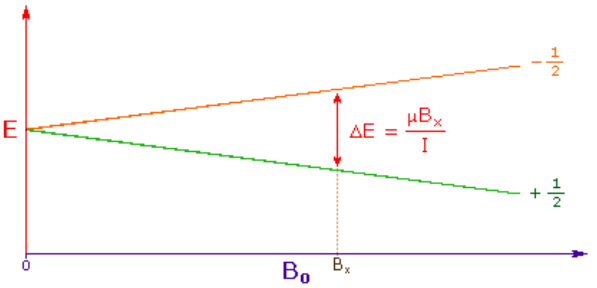
1. تولد شحنة الدوران مجالًا مغناطيسيًا كما في انفا. ومغناطيس الدوران الناتج له عزم مغناطيسي(μ) يتناسب مع الدوران.

2. في وجود مجال مغناطيسي خارجي (B_0) توجد حالتا دوران $-1/2$, $+1/2$ وتتم محاذاة اللحظة المغناطيسية لحالة الطاقة المنخفضة $(+1/2)$ مع المجال الخارجي لكن حالة الطاقة الأعلى $(-1/2)$ تعارض المجال الخارجي. لاحظ أن السهم الذي يمثل الحقل الخارجي يشير إلى الشمال.



شكل (15–2) العزم المغناطيسي نتيجة دوران الذرة حول محورها

3. يعتمد الفرق في الطاقة بين حالتي الدوران على قوة المجال المغناطيسي الخارجي وهو دائمًا صغير جدًا. يوضح الرسم البياني التالي أن حالتين مغزليتين لهما نفس الطاقة عندما يكون المجال الخارجي صفرًا لكنهما يتباعدان مع زيادة المجال. وفي حقل يساوي B_x يتم إعطاء صيغة لفرق الطاقة (تذكر أن $I = 1/2$ و μ هي اللحظة المغناطيسية للنواة في الحقل).



شكل(15–3) فرق الطاقة بين حالتين مغزليتين

ولمجالات المغناطيسية القوية ضرورية لمطياف الرنين المغناطيسي النووي. والوحدة الدولية للتدفق المغناطيسي هي تسلا tesla (T). والمجال المغناطيسي للأرض ليس ثابتًا ولكنه ما يقرب من (10^{-4} T) على مستوى الأرض. وتستخدم مطيافات الرنين المغناطيسي النووي الحديثة مغناطيسات قوية لها مجالات من 1 إلى 20 T حتى مع هذه الحقول العالية ويكون فرق الطاقة بين الحالتين أقل من 0.1 كيلو كالوري / مول. ولوضع هذا في المنظور الصحيح تذكر أن انتقالات الأشعة تحت الحمراء تتضمن 1 إلى 10 كيلو كالوري / مول وأن التحولات الإلكترونية أكبر بحوالي 100 مرة.

ولأغراض NMR يُعطى فرق الطاقة الصغير (ΔE) عادةً على شكل تردد بوحدات (10^6Hz) MHz وتتراوح من 20 إلى 900 Mz اعتمادًا على شدة المجال المغناطيسي والنواة المحددة قيد الدراسة. سوف يتسبب تشعيع عينة باستخدام طاقة التردد الالكترومغناطيسي (rf) المقابلة تمامًا لفصل حالة الدوران لمجموعة معينة من النوى في إثارة تلك النوى في حالة +1/2 إلى حالة الدوران الأعلى −1/2. ولاحظ أن هذا الإشعاع الكهرومغناطيسي يقع في طيف البث الإذاعي والتلفزيوني. لذلك فإن مطيافية NMR هي أخف مسبار نشط يستخدم لفحص بنية الجزيئات.

تحتوي نواة ذرة الهيدروجين (البروتون) على عزم مغناطيسي μ = 2.7927 وقد تمت دراستها أكثر من أي نواة أخرى.

3− بالنسبة لنوى الدوران 1/2 فإن فرق الطاقة بين حالتي الدوران عند شدة مجال مغناطيسي معين سيكون متناسبًا مع لحظاتها المغناطيسية. وبالنسبة إلى النوى الأربعة المشتركة المذكورة آنفاً للحظات المغناطيسية هي:

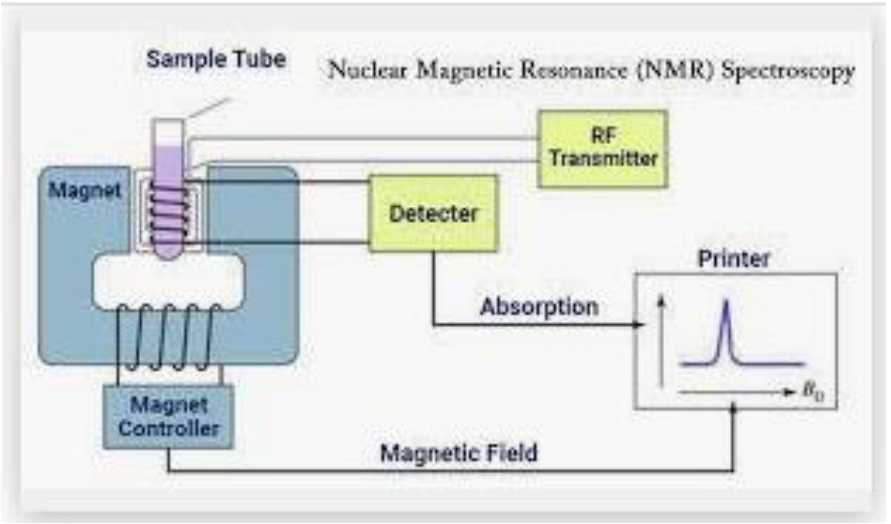
^{1}H μ = 2.7927, ^{19}F μ = 2.6273, ^{31}P μ = 1.1305 & ^{13}C μ = 0.7022.. وهذه اللحظات موجودة في المغناطيسات النووية وهي $5.05078 \cdot 10^{-27}$ JT^{-1} ويوضح الرسم البياني اللاحق الترددات التقريبية التي تتوافق مع فصل طاقة حالة الدوران لكل من هذه النوى في مجال مغناطيسي خارجي يبلغ 2.35 T. وتوضح الصيغة في المربع الملون الارتباط المباشر للتردد (فرق الطاقة) مع العزم المغناطيسي او لثابت يلانك

(h = Planck's constant = $6.626069 \cdot 10^{-34}$ Js).

شكل(15-4) الترددات التقريبية التي تتوافق مع فصل طاقة

مطيافية الرنين المغناطيسي النووي البروتوني Proton NMR Spectroscopy

يعمل هذا التطبيق المهم والراسخ للرنين المغناطيسي النووي على توضيح بعض الجوانب الجديدة لهذه الطريقة. بادئ ذي بدء يجب ضبط مطياف NMR على نواة معينة وفي هذه الحالة البروتون. يختلف الإجراء الفعلي للحصول على الطيف ولكن يُشار إلى أبسطها باسم طريقة الموجة المستمرة (continuous wave (CW) method) ويظهر مقياس طيف CW النموذجي في الرسم البياني التالي. ويتم توجيه محلول العينة في أنبوب زجاجي مقاس 5 مليمتر بين قطبي مغناطيس قوي. ويتم بث إشعاع التردد اللاسلكي للطاقة المناسبة إلى العينة من ملف هوائي. ويحيط ملف المستقبل بأنبوب العينة ويتم مراقبة انبعاث طاقة التردد الراديوي الممتصة بأجهزة إلكترونية مخصصة وجهاز كمبيوتر. حيث يتم الحصول على طيف الرنين المغناطيسي النووي من خلال تغيير أو مسح المجال المغناطيسي على مدى صغير أثناء مراقبة إشارة الترددات المغناطيسية من العينة. أسلوب فعال بنفس القدر هو تغيير تردد إشعاع الترددات المغناطيسية مع الحفاظ على المجال الخارجي ثابتًا.



شكل(15-5) مطيافية الرنين المغناطيسي النووي البروتوني

يتكوّن جهاز مطياف الرنين النووي:

(1) المغناطيس Magnet

يستخدم المغناطيس لفصل مستويات الطاقة المغناطيسية للأنوية المختلفة، ويمكن إستخدام مغناطيس دائم permanent magnet أو مغناطيس كهربائي electromagnet، وتوضع العينة في الجهاز بين قطبي المغناطيس الذى يشترط فيه أن يعطى مجالاً مغناطيسياً متجانسا Homogeneous field وأن يكون ثابتاً بدرجة مناسبة.

(2) وحدة تغيير شدة المجال Magnetic Field Sweep Generator

يتم تغيير شدة المجال المغناطيسي بوساطة ملف coil في مواجهة قطبى المغناطيس وهذا الملف متصل بمولد كهربائي متغير sweep generator فعند تغيير شدة التيار الكهربائي المستمر DC في الملف تتغيّر شدة المجال المغناطيسي في منطقة العينة في حدود طفيفة وهذا التغيير يكون في حدود 1000Hz(هرتز) في مطياف الرنين النووي المغناطيسي الذي يستخدم أشعة ترددها 60 MHz والذي يسمي 60 MHz NMR.

ولكي يوصل ملف المغناطيس magnet coil التيار الكهربي بكفاءة عالية يجب أن يحفظ في درجة حرارة منخفضة جدا تصل إلى درجة برودة الهليوم المسال، أما اذا ارتفعت درجة حرارة ملف المغناطيس فان المقاومة تزداد وتنطلق حرارة ويبدأ الهليوم في الغليان (درجة غليان الهليوم 4.3 درجة مطلقة) ويحدث اعاقة quenching للمجال المغناطيسي.

ويطلق على هذه الأجهزة

- Fourier transform nuclear magnetic resonance (FT NMR spectrometer).
- Magnetic resonance imaging (MRI) machine.

(3) مصدر إنتاج موجات أشعة الراديو Radiofrequency Transmitter

تنتج أشعة الراديومن متذبذب أشعة الراديو radiofrequency oscillator حيث تغذى في سلك مزدوج coil ملفوف حول العينة يسمى ملف الأرسال transmitter coil ويكون محورة عمودياً على اتجاه المجال المغناطيسي.

ويتم اختيار وحدة إنتاج أشعة الراديو على حسب تردد الأشعة المطلوب والتي تتوقف بالتالي على شدة المجال المغناطيسي المستخدم في الجهاز، على سبيل المثال في حالة إستخدام مغناطيسي 14 كيلوكاوس يكون تردد الأشعة المطلوب 60 MHz.

(4) وحدة وضع العينة Sample Holder and Probe

تستخدم أنابيب من الزجاج قطرها الداخلي 5mm لوضع العينات وهذه الأنبوبة تكون متصلة بتربين turbine يدار بالهواء، يمكن بوساطته دوران الأنبوبة حول محورها الرأسي عدة مئات من الدورات في الدقيقة x cycle/ min، وهذا الدوران يقلل من التأثير الناتج عن عدم التجانس في المجال المغناطيسي الخارجي.

(5) وحدة الكشاف Radiofrequency Receiver or Detector

يمكن الكشف عن امتصاص أشعة الراديو بملف آخر من السلك يحيط بالعينة أيضاً ويكون عمودياً على كل من ملف الإرسال والمجال المغناطيسي ويطلق عليه ملف الاستقبال receiver coil ويتولد فيه فيض كهربائي ينتقل إلى المستقبل receiver حيث يتم تكبيره وتسجيله.

(6) وحدة التكامل الألكترونية Electronic Integrator

تحتوى جميع أجهزة الرنين النووي المغناطيسي على وحدة لقياس المساحة تحت كل منحنى امتصاص وتسمى وحدة تكامل اليكترونية Electronic Integrator وهذه المساحة تتناسب طردياً مع عدد البروتونات المسؤولة عن هذا الامتصاص.

تختلف أجهزة NMR عن بعضها في شدة المجال المستخدم في تردد أشعة الراديو المستخدمة وتميز الأجهزة المختلفة بناء على تردد الأشعة المستخدمة في الجهاز.

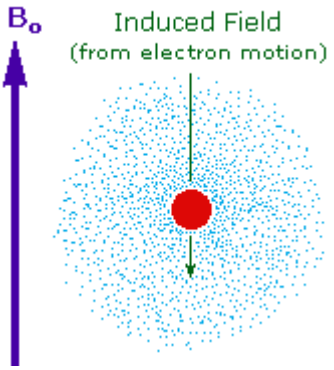
وكمثال نضع في اعتبارنا عينة من الماء في مجال مغناطيسي خارجي مقداره 2.3487T مشعة باشعاع 100 MHz إذا تم زيادة المجال المغناطيسي بسلاسة إلى

2.3488 T فإن نوى الهيدروجين لجزيئات الماء سوف تمتص طاقة الكهرومغناطيسية ذات التردد العالي(rf) في مرحلة ما وستظهر إشارة رنين. وسوف يتكرر المسح الميداني ثلاث مرات ويكون أثر الرنين الناتج مميزا ومن أجل الرؤية.

ونظرًا لأن البروتونات لها نفس العزم المغناطيسي فقد نتوقع أن تعطي جميع ذرات الهيدروجين إشارات رنين في نفس قيم المجال / التردد. ولحسن الحظ بالنسبة لتطبيقات الكيمياء هذا ليس صحيحًا وسيتم عرض عدد من إشارات البروتون التمثيلية على نفس نطاق المجال المغناطيسي. وليس من الممكن بالطبع فحص البروتونات المعزولة في مقياس الطيف الموصوف آنفاً ولكن من خلال القياس والحساب المستقلين وتم تحديد: أن بروتونًا غير مرتبط سيكون له رنين عند شدة مجال أقل من نوى الهيدروجين المترابطة تساهميًا. وباستثناء الماء والكلوروفورم وحامض الكبريتيك التي يتم فحصها على شكل سوائل يتم قياس جميع المركبات الأخرى على أنها غازات.

لماذا يجب أن تتصرف نوى البروتون في المركبات المختلفة بشكل مختلف في تجربة الرنين المغناطيسي النووي؟

الجواب على هذا السؤال يكمن في الإلكترون (الإلكترونات) المحيطة بالبروتون في المركبات والأيونات التساهمية. نظرًا لأن الإلكترونات عبارة عن جسيمات مشحونة فإنها تتحرك استجابةً للحقل المغناطيسي الخارجي B_o لتوليد حقل ثانوي يقاوم المجال المطبق الأقوى بكثير. ولحماية هذا المجال الثانوي النواة من المجال المطبق لذلك يجب زيادة B_o من أجل تحقيق الرنين (امتصاص طاقة التردد الكهرومغناطيسي). كما هو موضح في الرسم الموجود لاحقاً:



شكل(15-6) امتصاص طاقة التردد الكهرومغناطيسي

ويجب زيادة B_o لتعويض مجال الواقي المحتث induced shielding field. وفي المخطط العلوي تحتوي هذه المركبات التي تعطي إشارات رنين في الجانب العلوي من الرسم التخطيطي (CH_4, HCl, HBr and HI) على نوى بروتون محمية أكثر من تلك الموجودة في الجانب السفلي (الجانب الأيسر) من الرسم التخطيطي.

ونطاق المجال المغناطيسي المعروض في الرسم البياني آنفاً صغير جدًا مقارنة بقوة المجال الفعلية (حوالي 0.0042% فقط). ومن المعتاد الإشارة إلى الزيادات الصغيرة مثل هذه بوحدات الأجزاء لكل مليون (ppm). وبالتالي فإن الفرق بين 2.3487 T و 2.3488 T هو حوالي42 ppm. بدلاً من تعيين نطاق من إشارات NMR من حيث اختلافات المجال المغناطيسي (على النحو الوارد آنفاً). فمن الشائع استخدام مقياس التردد على الرغم من أن مقياس الطيف قد يعمل عن طريق اكتساح او كنس المجال المغناطيسيsweeping the magnetic field. وباستخدام هذا المصطلح نجد أنه عند 2.34 T تمتد إشارات البروتون الموضحة أ آنفاً على مدى 4,200 Hz اي (لتردد 100 ميجاهرتز يكون 42 جزء في المليون هو 4200 هرتز). وتظهر معظم المركبات العضوية رنين بروتون يقع ضمن نطاق 12 جزأً في المليون (المنطقة المظللة) ومن ثَم من الضروري استخدام مقاييس طيف دقيقة وحساسة للغاية لحل مجموعات متميزة بنيوياً من ذرات الهيدروجين ضمن هذا النطاق الضيق. وفي هذا الصدد يمكن ملاحظة أن اكتشاف فرق جزء لكل مليون يعادل اكتشاف فرق 1 مليمتر في مسافات كيلومتر واحد.

الازاحة الكيميائية Chemical Shift

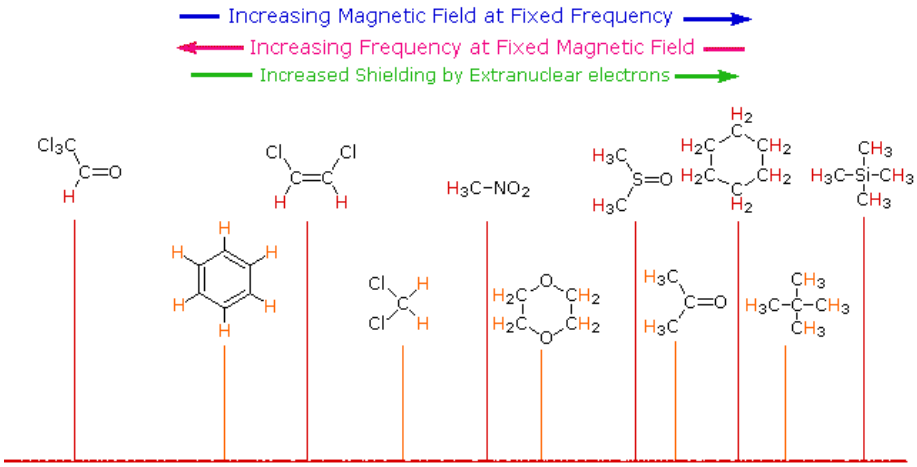
تعرف الازاحة الكيميائية على أنها الفرق في الأجزاء لكل مليون (جزء في المليون) بين تردد الرنين للبروتون المرصود وهيدروجين رباعي ميثيل السيلان TMS. و TMS هو المركب المرجعي الأكثر شيوعًا في الرنين المغناطيسي النووي ويتم ضبطه عند $\delta = 0$ جزء في المليون.

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{TMS}}{\nu_o} = \frac{\text{chemical shift in Hz}}{\text{operating frequency in MHz}}$$

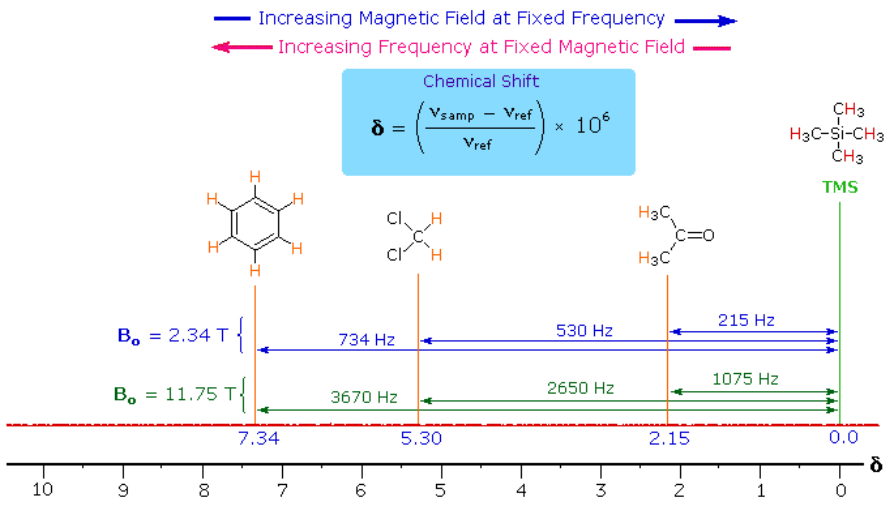
14,100 gauss: 60 MHz for ^{1}H (60 million hertz) ppm= 60 Hz

ومن العوامل التي تؤثر في الازاحة الكيميائية: المجموعات الكهروسالبية وتباين الخواص المغناطيسية لأنظمة π. والازاحة الكيميائية على عكس التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء والأشعة فوق البنفسجية حيث توجد قمم الامتصاص بشكل فريد بوساطة تردد أو

طول موجة يعتمد موقع إشارات الرنين NMR المختلفة على كل من شدة المجال المغناطيسي الخارجي وتردد الاشعاع الكهرومغناطيسي. ونظرًا لعدم وجود مغناطيسين لهما نفس المجال تمامًا ستختلف ترددات الرنين وفقًا لذلك وهناك حاجة إلى طريقة بديلة لتوصيف وتحديد موقع إشارات NMR ويتم توضيح هذه المشكلة من خلال المركبات الأحد عشر المختلفة الموضحة في الرسم البياني اللاحق. وعلى الرغم من أن إشارات الرنين الإحدى عشرة متميزة ومنفصلة جيدًا لا يمكن تعيين محدد موقع رقمي لا لبس فيه بشكل مباشر لكل منها.



(أ)



(ب)

شكل(15-7 أ، ب) موقع إشاراتNMR لبعض المركبات العضوية

عينة التحليل

ولتحضير العينة للتحليل بوساطة جهاز الرنين النووي المغناطيسي نحتاج حوالي 20– 30 ملي غرام من المادة الصلبة أو 50 ميكروليتر من العينة السائلة وتذاب العينة الصلبة أو تخفف العينة السائلة بحوالى 0.5 مل من المذيب المناسب، ثم توضع العينة في أنبوبة التحليل (5mm i. d. glass tube)، وإذا كان هناك عكارة يجب ترشيح العينة حتى تكون شفافة، ويجب أن يكون إرتفاع المحلول في الأنبوبة حوالي 3–7 سم، ويضاف إلى العينة مادة قياسية reference substance وهي غالباً عبارة عن مادة رابع ميثيل سيلان Tetra methyl silan ويطلق عليها (TMS) ثم تغطى الأنبوبة بغطاء بلاستيك ثم توضع الأنبوبة داخل الـ turbine ثم في المكان المخصص لها وهوبين قطبى المغناطيس ويدفع تيار من الهواء من خلال مضخة pump فتدور الأنبوبة بسرعة عالية ثم نعمل location لمادة TMS عند الصفر ثم نعمل scan للعينة على chart خاصة برسم طيف الامتصاص للعينات.

شكل (15- 8) انبوبة العينة السائلة لجهاز الـ NMR

الرنين المغناطيسي النووي لبعض المركبات المختلفة

تتمثل إحدى طرائق حل هذه المشكلة في الإبلاغ عن موقع إشارة NMR في الطيف بالنسبة للإشارة المرجعية من مركب قياسي مضاف إلى العينة. ويجب أن يكون هذا المعيار المرجعي غير متفاعل كيميائيًا ويمكن إزالته بسهولة من العينة بعد القياس. ويجب أن يعطي إشارة NMR حادة واحدة ايضاً لا تتداخل مع الرنين الذي تتم ملاحظته عادةً للمركبات العضوية.

المركب ثلاثي مثيل سيلان (Tetramethylsilane) $(CH3)_4Si$ ويشار إليه عادةً بـ TMS يلبي كل هذه الخصائص وأصبح المركب المرجعي المفضل الى NMR البروتوني والكربوني.

ونظرًا لأن فصل (أو تشتت) إشارات NMR يعتمد على المجال المغناطيسي يجب اتخاذ خطوة إضافية واحدة لتوفير وحدة موقع لا لبس فيها. ولتصحيح اختلافات التردد هذه لاعتمادها على المجال نقسمها على تردد مقياس الطيف (100 أو 500 MHz) في الامثلة انفة الذكر. وسيكون الرقم الناتج صغيرًا جدًا نظرًا لأننا نقسم Hz على MHz لذلك يتم ضربه في مليون كما هو موضح بالصيغة في المربع الاعلى.

جدول(15-2) خصائص بعض مذيبات الرنين المغناطيسي النووي

Solvent	B.P. °C	Residual ^{1}H signal (δ)	Residual ^{13}C signal (δ)
acetone-d_6	55.5	2.05 ppm	206 & 29.8 ppm
acetonitrile-d_3	80.7	1.95 ppm	118 & 1.3 ppm
benzene-d_6	79.1	7.16 ppm	128 ppm
chloroform-d	60.9	7.27 ppm	77.2 ppm
cyclohexane-d_{12}	78.0	1.38 ppm	26.4 ppm
dichloromethane-d_2	40.0	5.32 ppm	53.8 ppm
dimethylsulfoxide-d_6	190	2.50 ppm	39.5 ppm
nitromethane-d_3	100	4.33 ppm	62.8 ppm
pyridine-d_5	114	7.19, 7.55 & 8.71 ppm	150, 135.5 & 123.5 ppm
tetrahydrofuran-d_8	65.0	1.73 & 3.58 ppm	67.4 & 25.2 ppm

يلاحظ أن ν_{ref} هو تردد الرنين للإشارة المرجعية و ν_{samp} هو تردد إشارة العينة. وتعطي هذه العملية موقعاً له رقماً محدداً يسمى الازاحة الكيميائية للامتصاصات (Chemical Shift) تحتوي على وحدات من أجزاء لكل مليون (جزء في المليون) ومحددة بالرمز δ.

والمركبات المشار إليها آنفاً تشترك في خاصيتين مشتركتين وهي ذرات الهيدروجين في جزيء معين كلها مكافئة من الناحية الهيكلية ومتوسطها للتوازن التوافقي السريع. وجميع المركبات عبارة عن سوائل باستثناء مادة النيوبنتان (neopentane) التي تغلي عند 9 °C ويكون سائلًا في حمام جليدي. وتؤكد الميزة الأولى أن كل مركب يعطي إشارة رنين واحدة حادة وتسمح الميزة الثانية بوضع المادة النقية في أنبوب العينة وفحصها في مطياف NMR. ومن أجل أخذ أطياف NMR من مادة صلبة عادة ما يكون من الضروري إذابتها في مذيب مناسب. واستخدمت الدراسات المبكرة رابع كلوريد الكربون لهذا الغرض لأنه لا يحتوي على هيدروجين يمكن أن يقدم إشارة تداخل. ولسوء الحظ يعتبر CCl_4 مذيبًا سيئًا للعديد من المركبات القطبية وهو أيضًا سام. وتُستخدم الآن المركبات التي تحمل ذرات الديوتيريوم مثل

[deuterium oxide (D_2O) chloroform–d ($DCCl_3$), benzene–d_6 (C_6D_6), acetone–d_6 (CD_3COCD_3) , DMSO–d_6 (CD_3SOCD_3)] على نطاق واسع كمذيبات NMR نظرًا لأن نظير الديوتيريوم للهيدروجين له عزم ودوران مغناطيسي مختلفان فهو غير مرئي في مقياس طيف مضبوط على البروتونات.

ومن المناقشة والأمثلة السابقة قد نستنتج أن أحد العوامل المساهمة في اختلافات الانتقال الكيميائي للامتصاصات في رنين البروتون هو التأثير الحثي(inductive effect) . وإذا كانت كثافة الإلكترون حول نواة البروتون عالية نسبيًا فإن المجال المحتث بسبب حركات الإلكترون سيكون أقوى مما لو كانت كثافة الإلكترون منخفضة نسبيًا. ولذلك سيكون تأثير غلاف الحماية في مثل هذه الحالات عالية الكثافة الإلكترونية أكبر وستكون هناك حاجة إلى مجال خارجي أعلى (B_o) طاقة الكهرومغناطيسية عالية التردد (rf) لإثارة الدوران النووي. ونظرًا لأن السيليكون أقل كهربيًا من الكربون فمن المتوقع أن تكون كثافة الإلكترون حول هيدروجين الميثيل في رباعي ميثيل سيلان أكبر من كثافة الإلكترون حول هيدروجين الميثيل في نيوبنتان (2,2–dimethylpropane) وإشارة الرنين المميزة من مشتق السيلان تقع بالفعل في مجال مغناطيسي أعلى ويقال إن هذه النوى محمية. ويجب أن يكون للعناصر الأكثر كهروسلبية من الكربون تأثير معاكس (تقليل كثافة الإلكترون) وكما توضح البيانات الواردة في الجداول التالية فإن مجموعات الميثيل المرتبطة بهذه العناصر تعرض إشارات مجال أقل (وهي غير محمية). يتناسب تأثير إزالة الحجب لمجموعات سحب الإلكترون تقريبًا مع ساليبيتها الكهربائية كما هو موضح في الجدول(15–ا). وعلاوة على ذلك في حالة وجود أكثر من مجموعة واحدة من هذا القبيل فإن إزالة الحماية تكون مضافة (الجدول15– ب) ويتم إزاحة تردد البروتون حتى أبعد من ذلك.

جدول(15–3أ) الازاحة الكيميائية للامتصاصات في البروتون لمشتقات الميثيل Proton Chemical Shifts of Methyl Derivatives

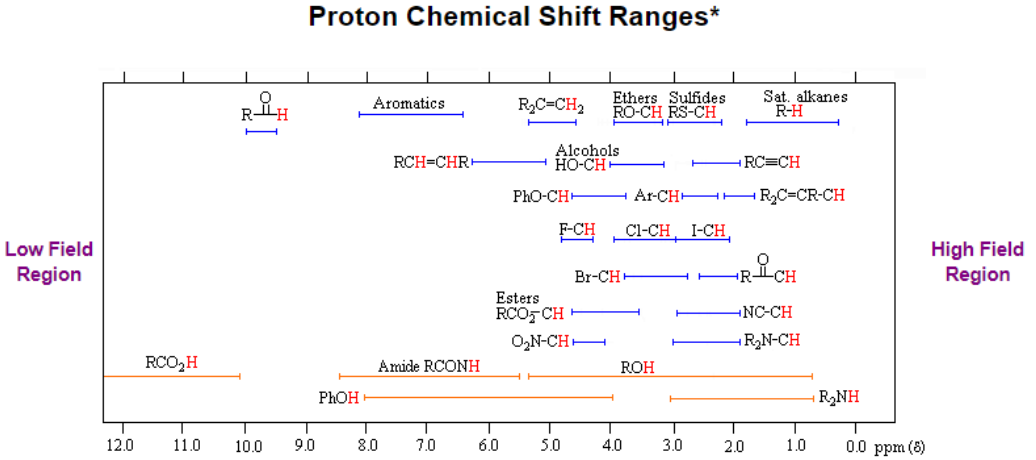
Compound	$(CH_3)_4C$	$(CH_3)_3N$	$(CH_3)_2O$	CH_3F
δ	0.9	2.1	3.2	4.1
Compound	$(CH_3)_4Si$	$(CH_3)_3P$	$(CH_3)_2S$	CH_3Cl
δ	0.0	0.9	2.1	3.0

جدول (15 –3 ب) الازاحات الكيميائية لامتصاصات البروتون (جزء في المليون) Proton Chemical Shifts (ppm)

Cpd. / Sub.	X=Cl	X=Br	X=I	X=OR	X=SR
CH_3X	3.0	2.7	2.1	3.1	2.1
CH_2X_2	5.3	5.0	3.9	4.4	3.7
CHX_3	7.3	6.8	4.9	5.0	

ويتم تلخيص التوزيع العام للازاحات الكيميائية البروتونية المرتبطة بمجموعات وظيفية مختلفة في الرسم البياني اللاحق. ونضع في حسابنا أن هذه النطاقات تقريبية وقد لا تشمل جميع مركبات ذات فئة معينة. ونلاحظ أيضًا أن النطاقات المحددة لبروتونات OH و NH أكبر من تلك الخاصة بمعظم بروتونات CH وهذا بسبب اختلافات الرابطة الهيدروجينية عند تركيزات مختلفة للعينة.

نطاقات الازاحة الكيميائية للبروتون *

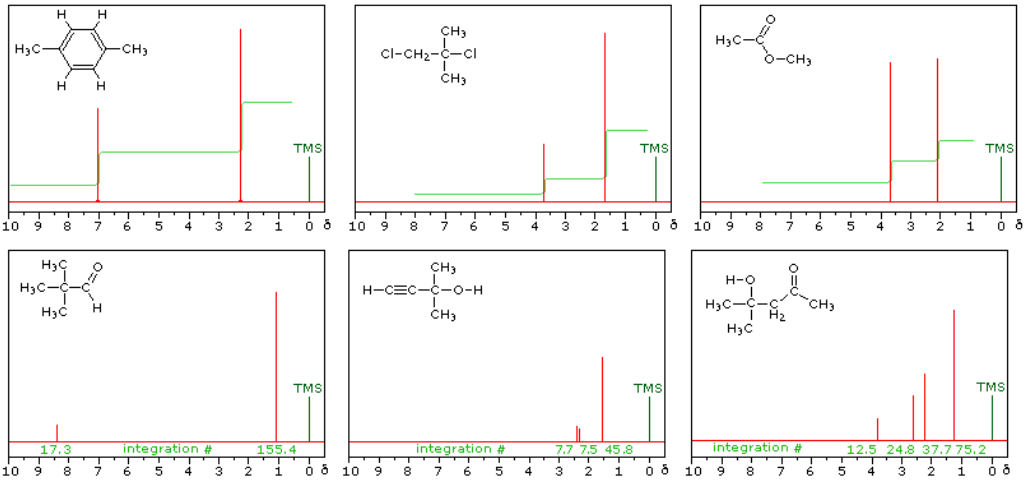


شكل(15–9) مخطط للعينات في محلول $CDCl_3$: لمقياس δ نسبة الى TMS عند δ = 0

قوة الاشارة Signal Strength

يتم عرض حجم أو شدة إشارات NMR على طول المحور الرأسي للطيف ويتناسب مع التركيز المولي للعينة. وبالتالي فإن العينة الصغيرة أو المخففة ستعطي إشارة ضعيفة وتضاعفها أو تضاعف تركيز العينة ثلاث مرات يزيد من قوة الإشارة بشكل متناسب. وإذا أخذنا طيف الرنين المغناطيسي للكميات المولية المتساوية للبنزين والهكسان الحلقي في محلول رابع كلوريد الكربون فإن إشارة الرنين الصادرة من الهكسان الحلقي ستكون ضعف شدة تلك الصادرة عن البنزين لأن الهكسان الحلقي يحتوي على ضعف عدد الهيدروجين لكل جزيء. وهذه علاقة مهمة عندما يتم فحص عينات تضم مجموعتين مختلفتين أو أكثر من ذرات الهيدروجين لأنها تسمح بتحديد نسبة ذرات الهيدروجين في كل مجموعة مميزة. وتحقيقا لهذه الغاية من الضروري قياس القوة النسبية وكذلك الازاحة الكيميائية لإشارات الرنين التي تشكل طيف

NMR يتم توضيح طريقتين شائعتين لعرض الكثافة المتكاملة المرتبطة بالطيف من خلال الأمثلة التالية. في الأطياف الثلاثة في الصف العلوي يرتفع أثر التكامل الأفقي (أخضر فاتح) حيث يعبر كل إشارة بمسافة تتناسب مع قوة الإشارة. وبدلاً من ذلك يتم طباعة رقم عشوائي يتم تحديده بواسطة كمبيوتر الجهاز ليعكس قوة الإشارة أسفل كل ذروة رنين كما هو موضح في الأطياف الثلاثة في الصف السفلي. ومن الشدة النسبية الموضحة هنا جنبًا إلى جنب مع ارتباطات الازاحة الكيميائية التي لوحظت سابقًا يجب أن يكون المحلل قادراً على تعيين الإشارات في هذه الأطياف إلى مجموعة الهيدروجين التي تولد كل منها. تلميح: عند تقييم قوة الإشارة النسبية من المفيد تعيين أصغر تكامل للوحدة وتحويل القيم الأخرى بشكل متناسب.

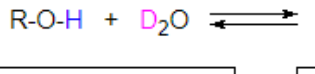


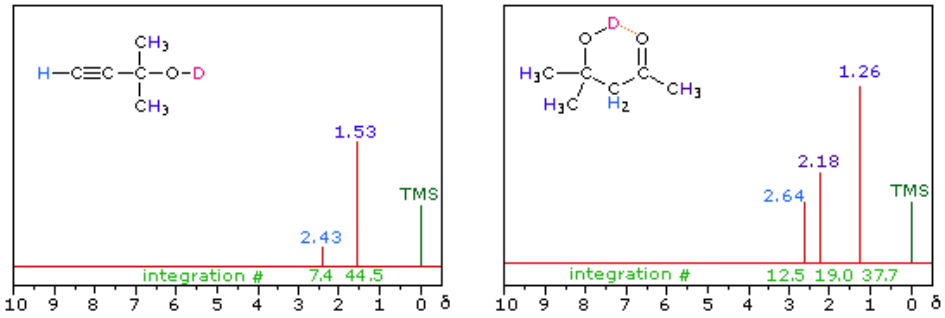
شكل(15–10) قوة الاشارة لبعض المركبات العضوية

تبادل بروتون الهيدروكسيل والاصرة الهيدروجينية الضمنية Hydroxyl Proton Exchange and the Influence of Hydrogen Bonding

المركبان الأخيران في الصف السفلي هما من صنف الكحوليات وتظهر إشارة بروتون OH عند 2.37 δ (4–hydroxy–4–methyl–2–pentanone) 3.87 δ (2–methyl–3–butyne–2–ol) مما يوضح النطاق الواسع الذي قد تكون عليه هذه الازاحة الكيميائية ان وجدت. والحلقة الهيدروجينية داخل الجزيئية المكونة من ستة أعضاء في المركب الأخير مسؤولة جزئياً عن انزياح المجال المنخفض. ويمكننا الاستفادة من التبادل السريع لأوكسيد الهيدروجين مع الديوتيريوم الموجود في الماء الثقيل لتعيين إشارات رنين بروتين الهيدروكسيل. كما هو موضح في المعادلة اللاحقة فإن هذا يزيل بروتون الهيدروكسيل من العينة وتختفي إشارة الرنين الخاصة به في طيف الرنين المغناطيسي النووي. ومن

الناحية التجريبية يضيف المرء ببساطة قطرة من الماء الثقيل إلى محلول الكلوروفورم د للمركب ويدير الطيف مرة أخرى. ويتم عرض نتيجة هذا التبادل آنفاً.



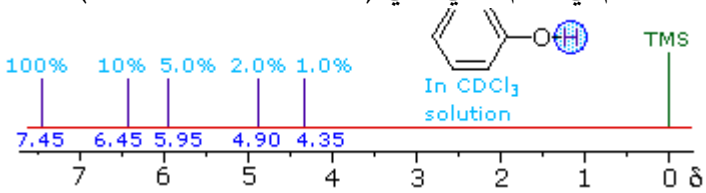


شكل(15–11) طيف الرنين المغناطيسي للكحول

يؤدي الارتباط الهيدروجيني إلى تحويل إشارة الرنين للبروتون إلى مجال أقل (تردد أعلى). وتدعم العديد من الملاحظات التجريبية هذا البيان وسيتم وصف عدد قليل منها هنا :

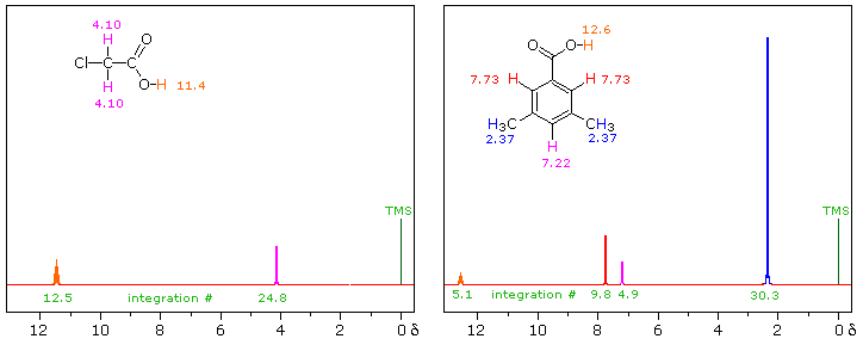
1– تختلف الازاحة الكيميائية لهيروجين الهيدروكسيل للكحول مع التركيز . وتعرض المحاليل المخففة جدًا لـ 2–ميثيل –2–بروبانول (CH3) 3COH في محلول رابع كلوريد الكربون إشارة رنين هيدروكسيل لها ازاحة كيميائية عالي المجال نسبيًا (δ 1.0>) في المحلول المركز تنتقل هذه الإشارة إلى مجال أقل عادةً بالقرب من δ 2.5.

2– تولد مجموعة الهيدروكسيل الأكثر حامضية من الفينول إشارة رنين ذات مجال منخفض تُظهر اعتمادًا مشابهًا للتركيز على تركيز الكحول. وتظهر إشارات رنين OH للتراكيز المئوية المختلفة للفينول في الكلوروفورم في الرسم البياني التالي (إشارات C–H غير معروضة).



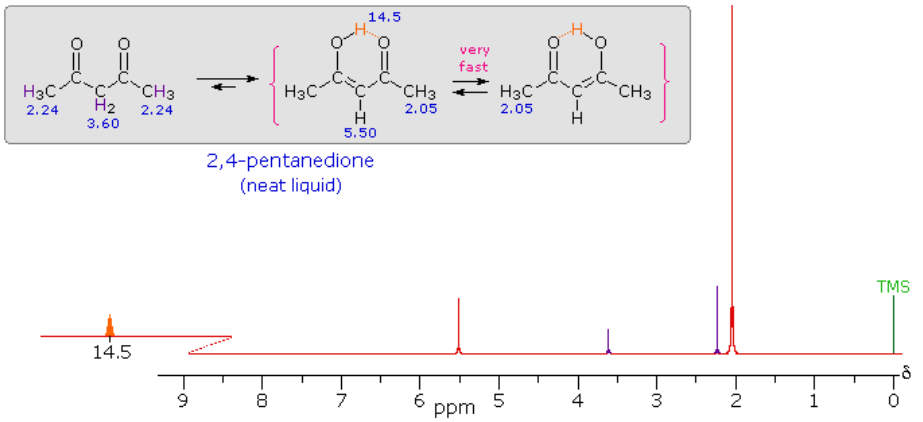
شكل(15–12) الطيف الرنيني للفينول في الكلوؤوفورم

3– بسبب ارتباطها الثنائي المرتبط بالهيدروجين المفضل يعرض بروتون الهيدروكسيل للأحماض الكربوكسيلية إشارة رنين إلى حد كبير في المجال السفلي للوظائف الأخرى. وبالنسبة للحامض النموذجي يظهر من 10.0 إلى 13.0 δ وغالبًا ما يكون أوسع من الإشارات الأخرى. الأطياف الموضحة لاحقاً لحمض كلورو أسيتيك (يسار) وحمض 3،5–ثنائي ميثيل بنزويك (يمين) أمثلة.



شكل(15–13) طيف الرنين النووي المغناطيسي لكل من حامض كلورو أسيتيك (يسار) وحمض 3،5–ثنائي ميثيل بنزويك (يمين)

4) الروابط الهيدروجينية داخل الجزيئية خاصة تلك التي تحدد الحلقة المكونة من ستة أعضاء تعرض عمومًا رنين بروتون منخفض المجال للغاية. حالة (the 4–hydroxypent–3–ene–2–one enol tautomer of 2,4–pentanedione) لا توضح هذه الخاصية فحسب بل تقدم أيضًا مثالًا تعليميًا لحساسية تجربة NMR للتغيير الديناميكي. وفي طيف الرنين المغناطيسي للسائل النقي تُرى إشارات حادة من كل من توتومرات كيتو وإينول وتكون النسبة المولية الخاصة بهم 4: 21. ويتم عرض تخصيصات الازاحة الكيميائية لهذه الإشارات في المربع المظلل فوق الطيف. وتكون الازاحة الكيميائية لبروتون الهيدروكسيل المرتبط بالهيدروجين 14.5 δ بشكل استثنائي في الحقل السفلي. ونستنتج إذن أن المعدل الذي يتم عنده التحويل البيني لهذه المواد المشدودة يكون بطيئاً مقارنة بالمقياس الزمني المتأصل في التحليل الطيفي بالرنين المغناطيسي النووي.



شكل(15–14) الروابط الهيدروجينية داخل الجزيئية لمركب كيتوني.

تأثيرات المذيبات Solvent Effects

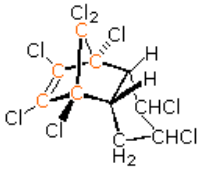
الكلوروفورم ($CDCl_3$) هو المذيب الأكثر شيوعًا لقياسات الرنين المغناطيسي النووي وذلك بفضل طابعه الذوبان الجيد والطبيعة غير التفاعلية النسبية باستثناء الامين الاولي والثانوي كما ذكرنا سابقًا وتتوفر أيضًا مركبات أخرى تحمل علامات الديوتيريوم مثل أوكسيد الديوتيريوم (D_2O) ، والبنزين (C_6D_6) والأسيتون (CD_3COCD_3) و (CD_3SOCD_3) DMSO للاستخدام ايضاص مذيبات NMR نظرًا لأن بعض هذه المذيبات لها وظائف الإلكترون و / أو قد تعمل شركاء رابطة هيدروجينية فقد تتغير الازاحات الكيميائية لمجموعات مختلفة من البروتونات اعتمادًا على المذيب المستخدم. ويقدم الجدول الاحق بعض الأمثلة التي تم الحصول عليها باستخدام المحاليل المخففة عند 300 ميجاهرتز.

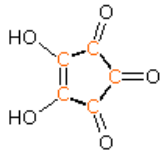
جدول(15–4) بعض التحولات الكيميائية النموذجية لمدة ساعة واحدة (قيم δ) في مذيبات مختارة

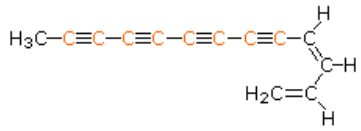
Solvent / Compound	$CDCl_3$	C_6D_6	CD_3COCD_3	CD_3SOCD_3	$CD_3C{\equiv}N$	D_2O
$(CH_3)_3C–O–CH_3$						
$C–CH_3$	1.19	1.07	1.13	1.11	1.14	1.21
$O–CH_3$	3.22	3.04	3.13	3.03	3.13	3.22
$(CH_3)_3C–O–H$						
$C–CH_3$	1.26	1.05	1.18	1.11	1.16	---
$O–H$	1.65	1.55	3.10	4.19	2.18	---
$C_6H_5CH_3$						
CH_3	2.36	2.11	2.32	2.30	2.33	---
C_6H_5	7.15-7.20	7.00-7.10	7.10-7.20	7.10-7.15	7.15-7.30	---
$(CH_3)_2C=O$	2.17	1.55	2.09	2.09	2.08	2.22

التحليل الطيفي للرنين المغناطيسي النووي الكربوني

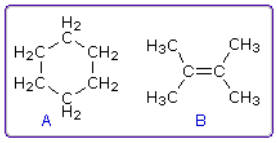
يجب أن تكون قوة وفائدة مطيافية ^1H NMR كأداة للتحليل الهيكلي واضحة من المناقشة السابقة. ولسوء الحظ عندما تفتقر أجزاء مهمة من الجزيء إلى روابط C–H فلا توجد معلومات وشيكة. وتشمل الأمثلة المركبات المتعددة الكلور مثل الكلوردان ومركبات البولي كاربونيل مثل حامض الكروكونيك والمركبات التي تتضمن روابط ثلاثية كما مبين لاحقاً.

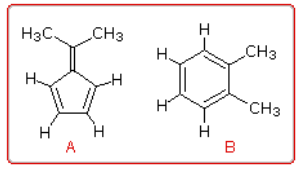

chlordane

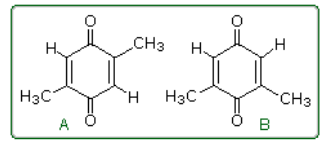

croconic acid


a polyacetylene from *Dahlia*

وحتى في حالة وجود العديد من مجموعات C–H قد لا يكون من الممكن تفسير طيف البروتون NMRبشكل لا لبس فيه. ويصور الرسم البياني التالي ثلاثة أزواج من الأيزومرات (A & B) التي تعرض أطياف بروتون NMR مماثلة. وعلى الرغم من أن التحديد الدقيق للازاحات الكيميائية يجب أن يسمح بتمييز أول زوج من المركبات إلا أنه قد يكون من الصعب تحديد الحالتين الثانية والثالثة بوساطة البروتون NMR وحده.







شكل(15–15) ايزومرات لبعض المركبات العضوية

ويمكن حل هذه الصعوبات إلى حد كبير إذا كان من الممكن سبر ذرات الكربون في الجزيء بوساطة NMR بنفس طريقة ذرات الهيدروجين. ونظرًا لأن النظير الرئيس للكربون (^{12}C) ليس له دوران فإن هذا الخيار يبدو غير واقعي. ولحسن الحظ ، فإن 1.1٪ من الكربون الأولي هو نظير ^{13}C والذي له دوران مغزلي I = 1/2 لذلك من حيث المبدأ يجب أن يكون من الممكن إجراء تجربة ويجب التغلب على العديد من العقبات قبل ظهور NMR الكربون أداةً روتينية:

1– لوحظ ، وفرة ^{13}C في عينة منخفضة للغاية (1.1٪) لذلك هناك حاجة إلى تركيزات أعلى في العينة.

2– نواة ^{13}C أقل حساسية بخمسين مرة من البروتون في تجربة NMR مما يضيف إلى الصعوبة السابقة.

3- ذرات الهيدروجين المرتبطة بذرة ^{13}C تشطر إشارة NMR الخاصة بها بمقدار 130 إلى 270 هرتز مما زاد من تعقيد طيف NMR.

تطبيقات عملية

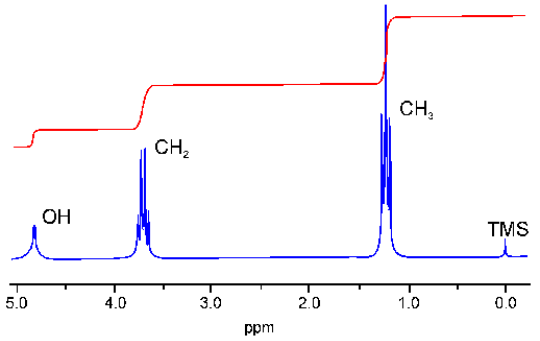
عند اجراء التحليل للكحول الاثيلي بواسطة جهاز الـ NMR يلاحظ من الطيف ان مجموعة الميثيلين CH_2 (بروتونات C) المجاورة لمجموعة الميثيل CH_3 فانها لها امتصاص واحد لأنها تحمل بروتونين متكافئين ويتأثر هذا الامتصاص بثلاثة بروتونات مجموعة الميثيل فتقوم كل واحدة من بروتونات الميثل بشق امتصاص مجموعة الميثيلين إلى نصفين تتداخل هذه الانشقاقات حتى تعطي في النهاية امتصاصاً رباعياً بنسبة 1: 3: 3: 1

ولسهولة توقع امتصاص أي مجموعة فانها هي نفسها لها امتصاص واحد يضاف اليها امتصاصات بعدد ذرات الهيدروجين التي تحملها ذرة الكربون المجاورة. أي أن عدد الامتصاصات للبروتونات الموجودة على أي ذرة كربون = عدد البروتونات التي تحملها ذرة الكربون المجاورة + 1.

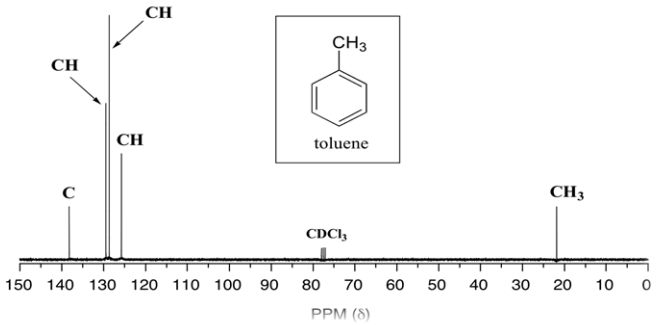
وبذلك يكون امتصاص مجموعة الميثيل في كحول الايثانول = 2 +1 = 3

أما امتصاص مجموعة الميثيلين في كحول الايثانول = 3 +1 = 4

أما امتصاص مجموعة الهيدروكسيل في كحول الايثانول = 1 لأن ذرة الأكسيجين تحول دون ازدواج بروتون الهيدروكسيل مع البروتونات المجاورة.



شكل (15-16) طيف الـ NMR للتلوين



شكل (15-17) طيف الـ NMR للتلوين

<u>التعرف على التركيب الجزيئي</u>

أهم المعلومات التي نحصل عليها من طيف الرنين المغناطيسي nmr spectrum ما يأتي:-

1- الأنتقال الكيميائى للإمتصاصات chemical shift (δ)

الانتقال الكيميائي يحدد نوع البروتونات في الجزىء اذ ان عدد الإمتصاصات يدل على أنواع البروتونات (الهيدروجين) الموجودة في الجزىء.

فنجد مثلاً أن مركب $C_6H_5-CH_2-CH_3$ يعطى ثلاثة امتصاصات عند ثلاث قيم مما يوضح أن هناك ثلاثة أنواع من البروتونات تختلف عن بعضها من ناحية الظروف الأليكترونية، بينما نجد مركب CH_3-OH يعطى امتصاصين فقط عند قيمتين مختلفتين من الانتقال الكيميائى ليدل بذلك على وجود نوعين من البروتونات.

والطريقة النموذجية للتعرف على التركيب الجزيئى للمركب هي البدء بالرمز الجزيئى molecular formula وذلك لتحديد درجة عدم التشبع unsaturation أو عدد الحلقات العطرية ويفيد فحص الانتقال الكيميائى chemical shift في التفرقة بين عدم التشبع والحلقات العطرية فإذا كانت هناك امتصاصات في المنطقة ما بين δ 8.5 :7 فهذا يدل على وجود حلقة عطرية أما إذا ظهر امتصاص في المنطقة δ 6 :4.5 فيمكن إفتراض وجود رابطة زوجية.

2- عدد الانقسامات الداخلية في كل إمتصاص رئيس Spin Spin Coupling

إن فحص عدد الانقسامات في كل امتصاص رئيس يفيد في تحديد الوضع النسبى لهذه البروتونات، فالانقسام الثلاثى يشير إلى وجود مجموعة CH_2 مجاورة أو مجموعة CH على كل جانب، أما الانقسام الرباعى فيشير إلى وجود مجموعة CH_3 مجاورة أو

مجموعتين إحداهما CH_2 على جانب، CH على الجانب الأخر، أما الأنقسام الثنائى فيشير إلى وجود مجموعة CH مجاورة وهكذا.

وإذا كان الجزيء يحتوى على ذرة أكسجين أو نتروجين فانه يجب أن نبحث عن امتصاص فردى عريض للبروتون لمجموعة OH أو NH وفى حالة عدم وجود هذا الإمتصاص فإن هناك احتمالاً لأن تكون المادة مركب كربونيلى C=O أو R– O– R.

3– كثافة الامتصاصات integration

يوضح نسبة ذرات الهيدروجين إلى بعضها في الجزيء وكذلك عدد البروتونات في كل مجموعة امتصاص اذ ان كثافة كل امتصاص يتناسب طردياً مع عدد ذرات الهيدروجين.

4– ثابت الإزدواج (J) Coupling Constant

إن عملية الإزدواج لا تظهر في البروتونات المتكافئة مغناطيسياً. مثال ذلك البروتونات الموجودة على مجموعة CH_3، لأن هذه البروتونات لها نفس التردد ويكون لها نفس ثابت الإزدواج مع البروتونات التي في المجموعات المتجاورة. وهذه الثلاثة البروتونات في المجموعة $C– CH_3$ لها حرية الدوران حول الرابطة الكربونية. أما في حالة البروتونات غير متكافئة مغناطيسياً فيحدث لها إزدواج بقيم مختلفة مع بروتون معين من المجموعة الأخرى.

ويقسم ثابت الإزدواج إلى ثلاثة أصناف:–

أ. إزدواج البروتونات على نفس ذرة الكربون Geminal coupling ويفصل البروتونات في هذه الحالة رابطتان H– C– H

ب. إزدواج للبروتونات المتجاو رة Vicinal coupling ويفصل البروتونات في هذه الحالة ثلاثة روابط كيميائية كما في كل من:

H- C- C- H or H- C= C- H

ج. **الازدواج على مدى طويل Long range coupling** مثال ذرات الهيدروجين على جزئ البنزين أو الهكسان الحلقي.

وعموما قيمة ثابت الإزدواج مهمة جداً في عملية تفسير الطيف spectrum اذ ان قيمة coupling constant (J) بين البروتونات (الهيدروجين) تكون صغيرة، اذ نجد أنها مثلاً في المركب HC– CH تتراوح بين 2– 9 Hz بينما في المركب – CH_2 تتراوح بين 12– 20 Hz. كما أن قيمة J تختلف باختلاف المشابهات الهندسية فبينما نجد أن

قيمة J في المركب cis– ethylene تساوي 6–14 Hz نجدة يكون في المدى 11–18 Hz في المشابة trans– ethylene.

أما في حالة الإزدواج بين الهيدروجين والفلور أو الفوسفور فيكون أكبر من ذلك بكثير:

في حالة المركب H- C- C- F يكون J= 5- 25 Hz

في حالة المركب H- C=C- F يكون J= 12- 40 Hz

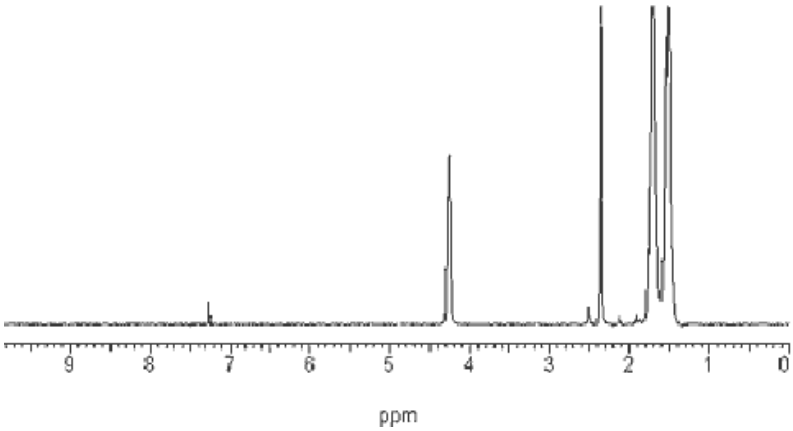
في حالة المركب H– C– F يكون J= 44– 81 Hz

في حالة المركب H– C– C– C– F يكون J= 5 Hz

في حالة المركب –H– P يكون J= 200 Hz

في حالة المركب H– C– P=O يكون J= 10 Hz

فيما يأتي شكل(9–16) أطياف الرنين النووي المغناطيسي (^{1}HNMR) لمركب البنتانول الحلقي.



شكل (15-18) طيف الرنين المغناطيسي لمركب البنتانول الحلقي ^{1}H NMR for cyclopentanol

اسئلة الفصل الخامس عشر

1– ضع علامة (√) امام الاجابة الصحيحة وعلامة (×) امام الاجابة الخطأ مع تصحيح الخطأ.

ا- تستخدم تقنية الرنين النووى المغناطيسي للذرات ذات العدد الفردى أو ذات كتلة زوجية.

ب- من الأنوية ذات الخواص المغناطيسية الكربون- 12

ت- في طيف الرنين النووى المغناطيسي يتم تسجيل امتصاص جميع أنوية العناصر التي لها خواص مغناطيسية

ث- كل نوع من أنوية ذرات العناصر يمتص الطاقة على تردد مختلف

ج- يشترط عند تحضير العينات ألا يحتوى المذيب على هيدروجين في تركيبة أو على نظيرة الديوتيريم

ح- يستخدم الـ TMS كمرجع (المادة القياسية) في طيف الرنين النووى المغناطيسي

خ- يرمز للإزاحة الكيميائية الناتجة عن وجود البروتونات في الجزيء بالرمز (α) الفا

د- المركبات التي وزنها الجزيئى رقم فردى تكون محتوية على عدد فردى من النتروجين

ذ- يمكن التفرقة بين الإيثانول وثنائى ميثيل إيثر عن طريق مطياف الكتلة

ر- قاعدة الإنشطار (n+1) اذ (n) هي عدد ذرات الهيدروجين على نفس ذرة الكربون

ز- البروتونات المتكافئة كيميائيا تكون متكافئة مغناطيسياُ

س- البروتونات التي ليس لها نفس البيئة الإلكترونية تكون غير متكافئة كيميائيا وبالتالي غير متكافئة مغناطيسياُ

ش- نسبة وجود الكربون - 13 في الطبيعة هي 1.1 % مقارنة بذرة الكربون- 12

2- ما مزايا استخدام تتراميثيل سيلان (TMS) كمرجع في طيف الرنين النووي المغناطيسي؟

3- ما العوامل التي تؤثر على الإزاحة الكيميائية في طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون؟

4- لماذا يكون طيف الرنين النووى المغناطيسي للكربون - 13 أسهل في التفسير من طيف الرنين النووى المغناطيسي للبروتون؟

5- أذكر العوامل المؤثرة في الإزاحة الكيميائية لطيف الرنين النووى المغناطيسي للكربون - 13؟

6- أحسب معامل العجز في الهيدروجين في المركبات الاتية:-

a- C_2H_6O

b- C_6H_5N

c- C_6H_7N

d- C_8H_8O

7- كيف يمكن التفرقة بين المركبات الاتية: بتقنية الرنين النووى المغناطيسي:-

a- C_2H_5OH & CH_3COCH_3

b- Aniline & Acetophenone $PhCOCH_3$

c- $CH_3COOC_2H_5$ & $C_2H_5COC_2H_5$

d- $(CH_3CO)O$ & CH_3COOH

الفصل السادس عشر

التحليل الحراري Thermal Analysis

التحاليل الحرارية:

التحليل الحراري هو احد فروع علم المواد(materials science) والتي يتم فيها دراسة او قياس خواص وصفات الماده التي تتغير مع درجة الحرارة.وتقنيات التحليل الحراري التي تعتمد على درجة الحرارة كدالة مناسبة لدراسة الصفات الفيزياوية للمادة او نواتج تفاعلها والتي تخضع لبرنامج حراري اثناء التحليل. وبالرغم من وجود اكثر من اثنتي عشر تقنية تحليلية حرارية والتي يتميز بعضها عن البعض الاخر على ضوء الصفة التي يتم قياسها يمكن تصنيفها إلى طرائق مختلفة اعتماداً على صفة المادة وخصائصها، اذ ان درجة الحرارة Temperature هي ظرف خاص بالمادة يحدد قدرتها على نقل الحرارة أو اكتسابها من المواد الأخرى. اما المصطلح Thermometry فيعني علم قياس درجة الحرارة. وان تأثير الحرارة على العينة واسع المدى ويتسبب في تغيير عدد من صفاتها ، جدول (14- 1).

الجدول (16- 1) يبين العلاقات المقاسة في طرق التحليل الحراري المختلفة

الصفة المقاسة	الطريقة
الكتلة (mass)	التحليل الوزني الحراري (TGA) والتحليل الوزني الحراري التفاضلي (DTGA)
فروق درجة الحرارة ΔT	DTA التحليل الحراري التفاضلي و TT المعايرات الثرموميترية
ΔH	DSC المسح التفاضلي المسعري
تغير الكتلة كدالة للضغط	PTGA التحليل الوزني الحراري المضغوط
التشوه – تغير الأبعاد Deformation– Dimensions	TMA التحليل الحراري الميكانيكي
تغير الحجم Volume	Dilatometry التحليل المعتمد على التمدد الحراري
قياس نواتج التفكك الغازية	EGA التحليل المعتمد على الغازات المتصاعدة

الا انه يمكن التركيز على بعض التقنيات التي توفر معلومات عن الخواص الكيميائية لنموذج المادة بدلا عن المعلومات الفيزيائية لها.وتتضمن هذه الطرق :

1- التحليل الوزني الحراري(Thermo gravimetric analysis(TGA

2- التحليل الحراري التفاضلي. Differential thermal Analysis (DTA)

3- المسح التفاضلي المسعري.(Differential scanning calorimetry (DSC

4-التحليل الحراري المايكروي.Microthermal analysis

ان تزامن التحليل الوزني الحراري(TGA) مع المسح الحراري التفاضلي (DSC) يعطي دراسة تشخيصية كاملة لنفس العينة وعند نفس الظروف التحليلية مثل(الجو، معدل تدفق الغاز، ضغط بخار العينة، معدل التسخين، الاتصال الحراري لبودقة العينة ،أجهزة الاستشعار، وتأثير الإشعاع، الخ).ويمكن تعزيز المعلومات المتوفرة من التحليل الحراري التزامني Simultaneous Thermal Analysis (STA) السابق عن طريق اقترانها بتقنيات متطورة لتحليل الغازات مثل تقنية تحويل فوريية بالاشعة ماتحت الحمراء(FTIR) او مطياف الكتلة(MS).هنالك طرق اخرى اقل شيوعا مثل طرق قياس الصوت او قياس انبعاث الضوء من العينة، أو التفريغ الكهربائي من مادة عازلة، أو الاسترخاء الميكانيكي للعينة الخاضعة تحت الجهد. جوهر كل هذه التقنيات هو أن درجة الحرارة(او الزمن) بوصفها كدالة لاستجابة عينة يتم تسجيلها.

ومن المعتاد التحكم في درجة الحرارة ببرنامج محدد سلفا إما عن طريق زيادة مستمرة أو انخفاض في درجات الحرارة بمعدل ثابت (التسخين / التبريد الخطي) أو من خلال تنفيذ سلسلة من درجات حرارة مختلفة (القياسات متساوية التدرج الحراري). تم تطوير برامج لمتابعة درجة الحرارة أكثر تقدما والتي تستخدم فيها حسابات رياضية عادة حسابات الجيب او مربع الموجة كدالة لمعدل التسخين المتذبذب أو تعديل معدل التسخين كاستجابة للتغيرات في خصائص عينة التحليل الحراري الخاضعة للدراسة. بالإضافة إلى التحكم في درجة حرارة العينة، فإنه من المهم أيضا السيطرة على بيئة تحليل العينة، فقد يتم إجراء قياسها في الهواء أو تحت غاز خامل (مثل النتروجين أو الهيليوم).ان الاجواء المختلفة المرتبطة بعينة التحليل مثل الماء او سوائل اخرى التي تخفض او تزيد من فاعلية العينة للتحليل يمكن دراستها تحت هذا النوع من التحليل بوساطة تقنية كروماتوغرافيا الغازذات الطور العكوس Reverse Gas Chromatography عن طريق متابعة تحليل الغازات او الابخرة المتفاعلة مع سطح العينة عند درجات حرارية

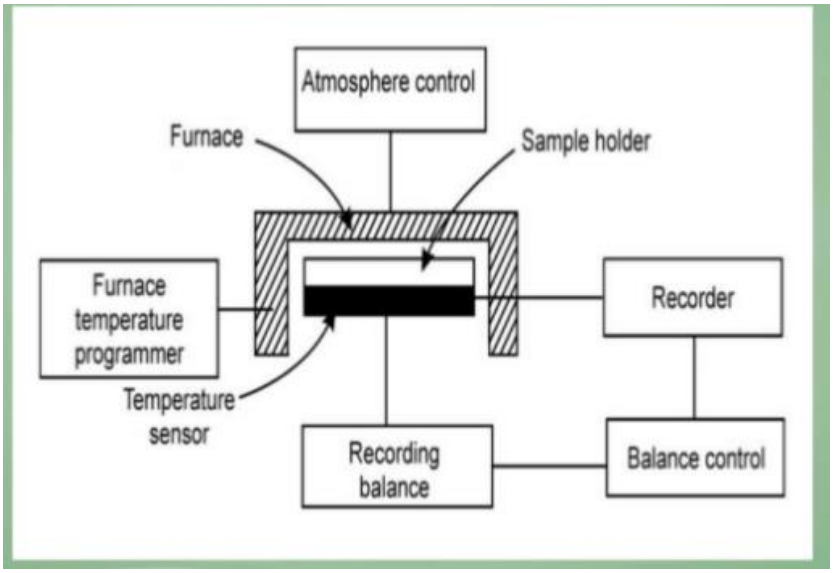
مختلفة. ان دراسة الشكل والخواص الميكانيكية للاسطح بوساطة مجهر القوة الذريةAtomic force microscopy ذات امكانية عالية للتفريق عن طريق التحكم في درجة الحرارة هو ايضا شكل من اشكال التحليل الحراري. كثيرا ما تستخدم التحليل الحراري كمصطلح لدراسة نقل الحرارة من خلال الهياكل. فالعديد من البيانات الهندسية الأساسية لعمل انظمة لنماذج مقترحة، يأتي من قياسات السعة الحرارية(heat capacity) والتوصيلية الحرارية(thermal conductivity) لها.

1- <u>التحليل الوزني الحراري</u> Thermogravimetric Analysis

ويرمز له اختصاراً (TGA) وتعتمد هذه الطريقة على قياس مقدار النقص أو الزيادة في وزن المادة نتيجة التسخين ويستخدم لذلك جهاز يسمى الميزان الحراري (Thermo balance). ويسجل التغير في كتلة العينة بدلالة درجة الحرارة أو الزمن. والمنحنى الناتج يسمى المنحنى الحراري (Thermogram). ويمكن بهذه الطريقة تحليل مكون واحد أو أكثر.

وفي هذا الجهاز يمكن ان يتم تسخين العينة لدرجة 1200 درجة مئوية وتستخدم لذلك بودقة مصنوعة من مادة لا تتأثر بهذه الدرجة الكبيرة ويمكن ان يتم التسخين في جو من الاوكسجين أو في جو من النيتروجين حسب طبيعة العينة.

اثناء تحليل العينة فإن الذي يتحكم بسرعة انهاء العينة هو معدل التسخين فمثلاً لو سخنت عينة بمعدل 2 deg/min إلى درجة 1200 درجة مئوية معناها انه في الدقيقة الواحدة تزيد درجة الحرارة للجهاز درجتين مئويتن فقط وبالتالي تأخذ العينة زمناً طويلاً إلى ان تنتهي أما اذا سخنت عينة بمعدل أعلى قليلاً مثلاً 20 deg/minإلى درجة 1200 درجة معناها انه في الدقيقة الواحدة تزيد درجة الحرارة للجهاز 20 درجة مئوية وبالتالي تنتهي العينة بزمن اقل.

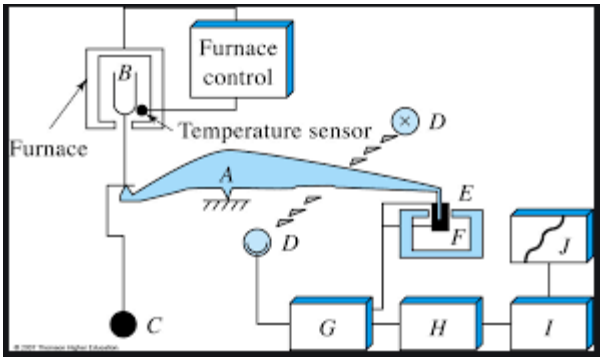


شكل (6- 1) مخطط جهاز التحليل الحراري

مكونات اجهزة TGA

تتكون مما يلي

a – ميزان حساس thermobalance. هنالك اعداد من الموازين مختلفة التصاميم متوفرة بشكل تجاري قادرة على تزويدنا بالمعلومات الكمية عن كتلة العينة ضمن مدى يتراوح بين اقل من 1 غرام الى 100غرام ،ولكن بالأمكان تحديد التغيرات الحاصلة في عينة كتلتها تصل الى 0.1 غرام .وتحمل العينة على حامل يقع وسط الميزان ومعزول حراريا عن الفرن، واى تغير يطرأ على العينة ينعكس على مسار الشعاع الممتد بين المصباح والدايود الفوتوني(المكشاف).ان عدم التوازن الحاصل في المكشاف يعطي وصف تفصيلي للتيار الناتج عن هذه الطريقة الحرارية الذي يضخم ويغذى ملف (E) الذي يقع بين اقطاب ممغنطة دائمية(F) شكل (16-3)، التي تولد مجالاً مغناطيسياً نتيجة التيار المتولد في الملف يقوم باعادة الشعاع الى موقعه الاصلي.ان التيار المضخم يعطي معلومات توضيحية عن التغيرات الحاصلة في كتلة العينة تنقل الى نظام البيانات التي تعطي في مخطط يبين العلاقة بين كتلة العينة (اغلب الاحيان) مقابل بيانات درجة الحرارة .



شكل (16–2).مكونات الميزان:A.شعاع الميزان B.حامل العينة C.وزن العينة D.المصباح والدايود الضوئي E.الملف المغناطيسي F.مغناطيس دائم و .G.H.I.J انظمة الحاسوب ومعالجة البيانات وطابعة.

b – فرن للتسخين Furnace

تعطي افران التحليل الوزني الحراري افراناً نموذجية في مدى من درجات الحرارة تصل الى 1000درجة مئوية وبعضها يصل 1600 مئوية وذات سرعة تسخين من0.1 درجة مئوية في الدقيقة الى 100 درجة مئوية في الدقيقة وقد تصل الى 200 درجة مئوية في الدقيقة.وقد يستخدام غاز النتروجين او غاز الاركون كغازات طاردة في الفرن من الملوثات نتيجة التحليل، اضافة الى ذلك تمنع العينة من التأكسد اي تخلق جو مناسب للتحليل.وتحصل عملية الطرد(التنقية) خلال 18دقيقة الاولى التي تكون العينة فيها بهيئة مادة فحمية بينما النسبة المئوية للمواد المتطايرة والمحتوى الكلي للرطوبة يسجل اثنائها.ولقياس المحتوى الكلي للرماد الناتج بعد عملية امرار غاز الاوكسجين لمدة تتراوح بين 4–5 دقيقة لتحويل المادة الفحمية الى ثاني اوكسيد الكاربون واخيرا تبدأ عملية التنقية او التطهير بوساطة غاز النتروجين لتحديد محتوى الرماد المتبقي .ان المحور الخاص بدرجة الحرارة يتضمن مواد قياسية ذات نقطة كيوريه (curie point) معروفة او بعض الاحيان نقطة الانصهار، والنقطة الكيوريه هي درجة الحرارة التي تصبح المادة ذات خواص فيرومغناطيسية مادة بارا مغناطيسية. المادة الفيرومغناطيسية معلقة عموديا ضمن المجال المغناطيسي وباتجاة القوة المغناطيسية المؤثرة على العينة، التي تعمل ككتلة مغناطيسية مكافئة الى شعاع ميزان التحليل الوزني الحراري كمؤشر لاظهار كتلة العينة.عندما تكون العينة ساخنة خلال النفطة الكيورية فأن الميزان يشير الى خسارة

واضحة في الكتلة نتيجة الخسارة في الكتلة المغناطيسية .ان الضبط لدرجة الحرارة في هذا النوع من الموازين تصل الى 1 درجة مئوية وذات دقة(توافقية) نموذجية.

c – وحدة لقياس درجة الحرارة بدقة والتحكم بها temperature control

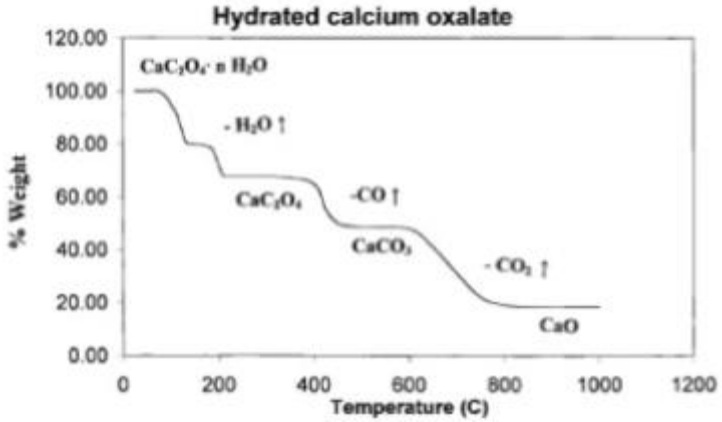
ان المخطط الحراري الذي يسجل الدرجة الحقيقية المثالية للعينة والتي تم الحصول عليها من حيث المبدأ نتيجة تماس المزدوج الحراري الصغير (small thermocouple) مباشرة مع العينة وهذا الاجراء يقود الى بعض المشاكل المحتملة مثل تفكك النموذج او تلوثه او حصول خطأ في وزن العينة ،ولتفادي هذه المشاكل يوضع هذا الزوج الحراري الصغير اقرب ما يمكن من حاوية العينة لكي تسجل الدرجة الفعلية للعينة.

d – وسيلة آلية لتسجيل منحنى TGA هو وسيلة للتحكم بالجو المحيط بالعينة اثناء التسخين. في التحليل الوزني الحديث تستخدم حاسوب يعمل ذاتيا للسيطرة على درجة الحرارة والذي يعمل مقارنة بين الفولتية الخارجة من الزوج الحراري الصغير مقابل درجة الحرارة –الفولتية المخزونة على شكل جدول في ذاكرة الحاسوب. في الانظمة الحديثة يحصل توافق مثالي بين برنامج درجة الحرارة المحدد ودرجة حرارة العينة قد يصل هذا التوافق الى استنساخية

(reproducibility)2 درجة حرارية مئوية عند مدى تشغيلي كامل للجهاز .

– **<u>الاسس النظرية للطريقة</u>**

الشكل (16–3) يمثل شكلا مثاليا لمنحنيات التحليل الحراري الوزني ففي كل المنحنيات يتم قياس كتلة العينة اثناء زيادة درجة الحرارة. فالتفاعل يبدأ عندما تصبح ΔG سالبة حيث يتغير الوزن عن ما كانت تسجله العينة قبل بلوغ درجة الحرارة تلك وبعد انتهاء التفاعل تتوقف تغيرات الكتلة عند الكتلة الجديدة وتبقى على شكل مستوي حتى ترتفع درجة الحرارة إلى الحد الذي يسمح بحدوث تفاعل جديد وهكذا، شكل(16–3).



شكل (16– 3) منحنى التحليل الوزني الحراري(اوكزالات الكالسيوم احادية ماء التزهر)

تعرف درجة الحرارة التي يبدء عندها تغير الكتلة (بدأ التفاعل) بـ Ti والدرجة التي يتوقف عندها تغير الكتلة (انتهاء التفاعل) بـ Tf اضافة إلى ما سبق فإن منحنى TGA يعتمد على عدد من العوامل الأخرى:

1 – معدل التسخين

. عند تسخين اي مادة لابد وان يكون هنالك اختلاف في درجة الحرارة بين فرن التسخين Furnace والعينة يتناسب مقدار الفرق هذا طردياً مع معدل التسخين (عدد درجات الحرارة لوحدة الزمن) فإذا كانت درجة حرارة بدأ التفاعل الفعلي Ti° فإن Ti المشاهدة (التي يدل عليها الجهاز) تكون دائما اكبر من Ti° وذلك بسبب الفرق الذي ذكرناه وبنفس الطريقة تتأثر Tf وقد يزداد الفرق (Tf – Ti) بزيادة معدل التسخين.

2 – حرارة التفاعل

وهي من مميزات التفاعل ولا يمكن تغييرها وتتسبب في كبر مقدار (Tf – Ti) في التفاعلات الماصة للحرارة وصغره في التفاعلات الطاردة للحرارة وهذا العامل يؤثر على Tf دون Ti.

3 – الجو المحيط بالعينة: يمكن التحكم به مما يغير التفاعلات التي يمكن للعينة ان تخضع لها ويقود ذلك إلى تغيير جذري في منحنيات التحليل الحراري الوزني تطبيقا لمبدأ لية شاتولية. فاذا كان جو الغاز المحيط بالجفنة هو الهواء تختلف النواتج نوعا ما، اذ لا يخرج غاز CO ابدا بل ينتج غاز CO_2 اما اذا كان الجو هو غاز خامل مثل N_2, Ar, He, Ne فتبقى النواتج كما هي.

4 – تركيب بودقة العينة: تعتبر البودقة جزءاً مهما للأسباب الاتية:-

a – قد يكون لمادتها اثر حفزي على التفاعلات الجارية.

b – قد يعيق جدار البودقة احد الغازات الناتجة عن العينة الخاضعة للتحليل بالتفاعل معه.

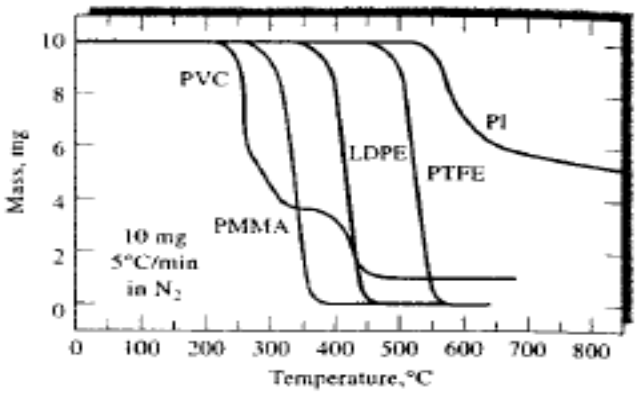
5 – الحالة الفيزيائية للعينة مثل وزن العينة وحجم دقائقها وطريقة تعبئة البودقة.

هذه العوامل مجتمعة أو احدها قادر على تغيير شكل منحنى TGA وهذا من اسباب ضآلة الفائدة من TGA كوسيلة تحليل وصفية Qualitative Analysis.

- **تطبيقات TGA**

التحليل الوزني الحراري مرآة لكتلة العينة مع درجة الحرارة مما يعطي معلومات كمية مهمة الا بعض المحددات مثل تفكك العينة وتفاعلات الاكسدة وبعض العمليات الفيزياوية مثل التبخير او التسامي.ومن بين التطبيقات المهمة :

1-دراسة البوليمرات .المخطط الحراري الناتج يعطي معلومات حول ميكانيكية التفكك الحاصل للمستحضرات البوليمرية المختلفة او يعطي تشخيص لانماط التفكك لكل نوع من البوليمر او بعض الاحيان يستعمل لاغراض التعريف لكل منها والشكل(16-5) يوضح التحلل الحاصل لخمس بوليمرات بوساطة القياس الوزني الحراري.



شكل(16-4) مخطط حراري لمواد بوليمرية شائعة

2-تفكك اكزالات الكالسيوم احادية ماء التزهر $CaC_2O_4.H_2O$

تحدث اثناء التفاعل ثلاث مراحل لفقدان الوزن:

المرحلة الاولى يفقد المركب جزيئ ماء التزهر ليتحول إلى اوكزالات الكالسيوم اللامائية

$CaC_2O_4.\ H_2O = CaC_2O_4 + H_2O\ (g)$

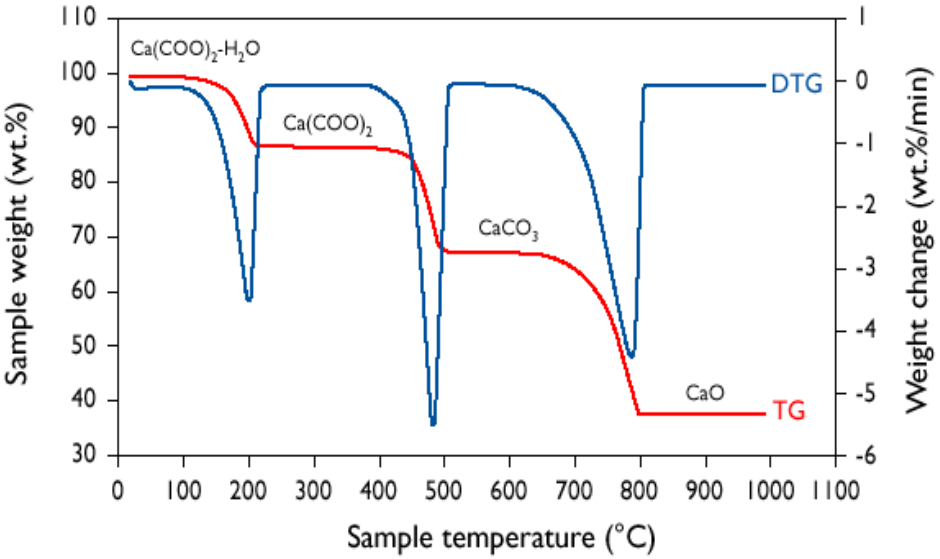
المرحلة الثانية يتكسر فيها الملح ليعطي غاز اول اكسيد الكربون ويتحول إلى كاربونات الكالسيوم المستقر حراريا.

$CaC_2O_4 = CaCO_3 + CO$

المرحلة الثالثة يعاني المركب من المزيد من التكسر بفقد غاز ثاني اكسيد الكربون في درجة حرارة عالية مكونا اوكسيد الكالسيوم.

$CaCO_3 = CaO + CO_2$

وهذه المعلومات التي تم الوصول اليها تدل على الفوائد الكبرى التي يمكن للطريقة توفيرها في المجال التطبيقي لعلم الكيمياء.



شكل (16– 5) مراحل تفكك أو كزالات الكالسيوم الحراري

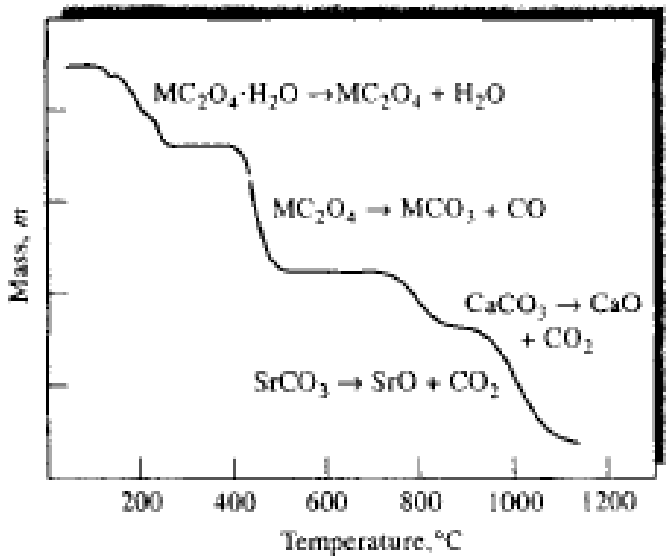
فشكل المنحنى ودرجات الحرارة التي تحدث عندها تغيرات الوزن يستدل منها على نوعية المركب تحليل وصفي أو نوعي (Qualitative Analysis) على ان المؤسف هو تأثر الشكل بالظروف المختبرية مما يلقي ظلالاً على هذه الفائدة التطبيقية تحديداً. الجانب التطبيقي الآخر لمنحنيات التحليل الحراري الوزني هو مقدار النقص في الوزن الذي يحدث للعينة اثناء التحليل والذي لا يتأثر ابداً بالظروف المختبرية. هذا الفقد يمكن ربطة بالعلاقات الاتحادية stoichiometric relationships مما يمكننا من على الوصول إلى نوع التفاعل كما انه يمثل التطبيق الكمي Quantitative Analysis.

ملاحظة اخيرة في هذا الشأن نستشفها من الشكل (14–3) وهي ان المنحنى يكون على شكل سلمي(TG) وبمفاضلة المنحنى يمكن تحويل الشكل السلمي إلى قمم peaks(DTG).

تطرد النواتج من الفرن بتمرير غاز خامل خلال الجهاز مثلا غاز النتروجين أو الهواء المؤكسد أو الهيدروجين كجو اختزالي ليشكل الجو المناسب للقياسات.

ان نواتج تحلل البوليمرات غالبا ما تكون قطرات تتكاثف على اجزاء حاملة العينات ويسبب في حصول خطأ ولهذا تجري تحاليل البوليمرات في مناطق سحب هواء جيدة لمنع تجمع غازات التجزؤ في المنطقة.

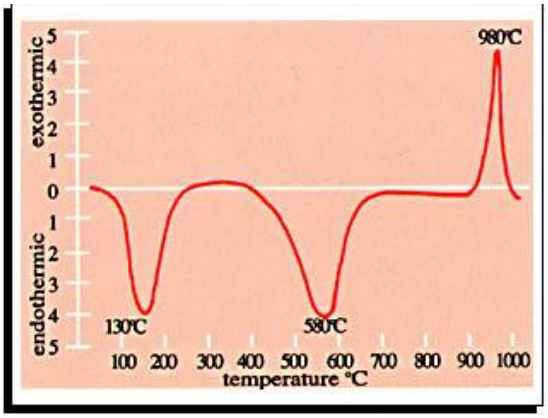
3–التطبيق الاخر للتحليل الوزني الحراري هو استخدامه في التحليل الكمي لخليط لكل من ايونات الكالسيوم والسترانتيوم والباريوم ،المرحلة الاولى تترسب هذه المواد على شكل كتل من اوكسلات مع جزيئة واحدة من ماء التزهر وعند تسخينها بمدى من درجات الحرارة بين 320–400 درجة مئوية تتحول المواد الى مركبات لامائية لكل من CaC_2 O_4،SrC_2O_4 ، BaC_2O_4، ام عند تسخينها بمدى حراري 580–620 درجة مئوية تتحول هذه الكتل الى كاربونات هذه العناصر واالمرحلة الاخيرة تتحول كتل كاربونات الكالسيوم اولا الى اكاسيده ثم كاربونات السترانتيوم بعد فقدان كل منها ثاني اوكسيد الكاربون ويحسب نسبة كل عنصر في العينة، الشكل(16–6).



شكل(16–6) مخطط التحليل الكمي لايونات Ba،Sr، Ca في مخلوط

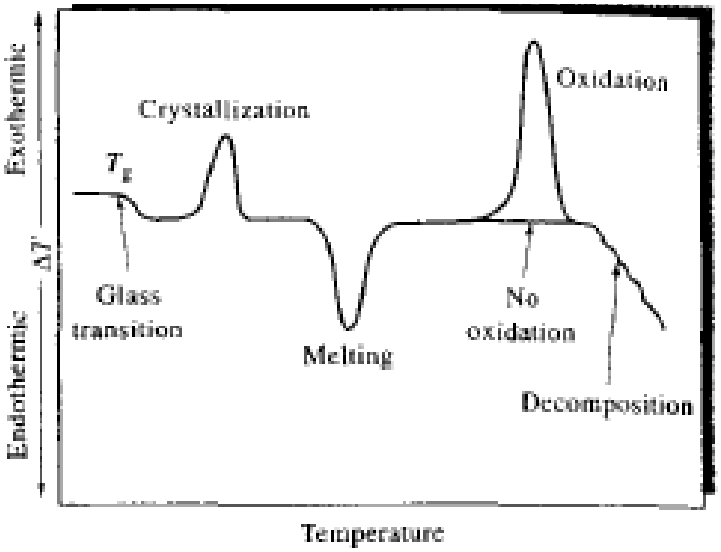
2- التحليل التفاضلي الحراري Deferential Thermal Analysis DTA

ويرمز له إختصاراً (DTA) وفي هذه الطريقة تقارن درجة حرارة العينة بدرجة حرارة مادة قياسية خاملة حرارياً مثل الألومينا ويسجل الفرق في درجة الحرارة بدلالة درجة الحرارة خلال عملية التسخين أو التبريد بمعدل سرعة ثابتة ومنتظمة ويظهر المنحنى على هيئة قمم (Peaks) تبين الطاقة الممتصة أو الطاقة المنطلقة. فعندما يكون إتجاه القمة إلى أعلى يكون التغير مصحوباً بإنطلاق للطاقة وعندما يكون إتجاه القمة إلى الأسفل يكون التغير مصحوباً بإمتصاص للطاقة. وتعبر المساحة تحت القمة أو الإرتفاع عن مقدار النقص في الوزن شكل(16-7).



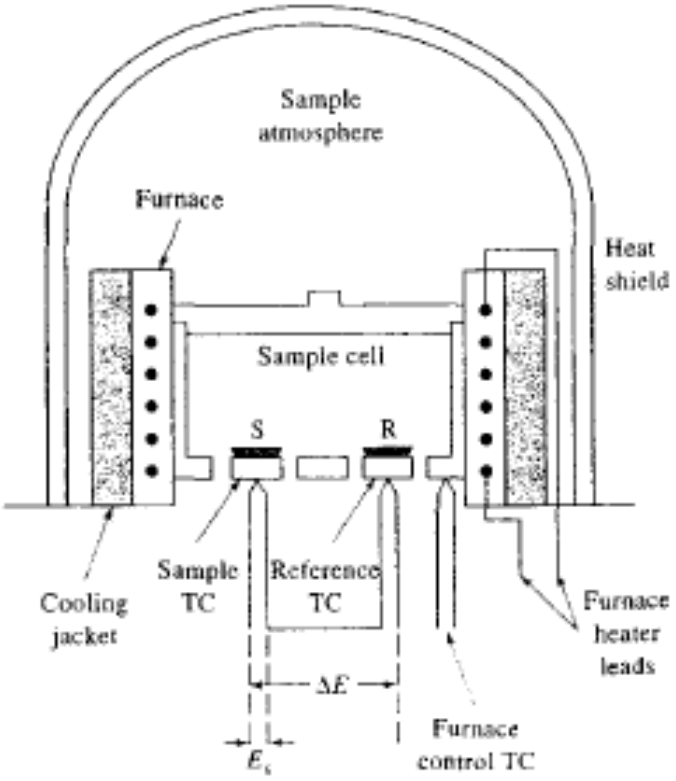
شكل(16-7) منحني التحليل التفاضلي الحراري

عند تسخين العينة والمادة القياسية فان درجة الحرارة T_S للعينة تزداد مع الزمن فان التغير الحاصل في درجة الحرارة ΔT بين العينة والمادة القياسية T_r ($T_r - T_S = \Delta T$) وترسم هذه القيمة مقابل درجة حرارة العينة ليعطي مخطط حراري تفاضلي شكل(14-8).



شكل(16-8) المخطط الحراري التفاضلي لمواد بوليمرية

في هذا الجهاز ايضاً يمكن تسخين عدد من الملي غرامات من العينة إلى درجة تصل إلى 1200 درجة مئوية ويمكن استخدام غاز النيتروجين أو عمل العينة في الهواء وداخل جهاز DTA يوجد بودقتين اثنتين وليست واحدة كما في جهاز TGA البودقة الاولى هي للمادة القياسية R والثانية للعينة S ويوجد فرن واحد فقط بجانب العينة شكل(14-9). كما يوجد مزدوج حراري thermocouple(TC) لكل من العينة والمادة القياسية التي تعطي تغير في الفولتية ΔE ثم تضخم وتتحول الى فرق في درجات الحرارة ΔT.



شكل(16–9) مخطط عام لجهاز التحليل التفاضلي الحراري

المبادىء العامة

يوضح المخطط الحراري المثالي الشكل(16–8)، الذي تم الحصول عليه نتيجة تعرض المادة البوليمرية الى مدى من درجات الحرارة الكافية للتحلل. ان النقصان الأولي في (ΔH) يعود الى تحول الزجاج ، وهي ظاهرة تلاحظ في كثير من المخططات الحرارية للبوليمرات. درجة تحول الزجاج(T_g) وهي درجة حرارة مميزة يتحول فيها البوليمر الزجاجي من الشكل غير المنتظم الى شكل مرن او شكل شبيه بالمطاط بسبب الحركة الموحدة اوالمنضبطة للاجزاء الكبيرة من جزيئات البوليمر. عندما نسخن الى درجة حرارة التحول للزجاج(T_g)،يتغير البوليمر من زجاج الى مطاط . ومثل هذه التحولات لا تحتوي على امتصاص او تحول في الحرارة ولذلك لا يوجد تغير في المحتوى الحراري الانثالبي($\Delta H = 0$). السعة الحرارية للمطاط تختلف عن الزجاج والتي تنتج انخفاض تحت الخط الاساس مثلما مبين في الشكل ، حيث لا يوجد قمم تظهر اثناء هذا التحول

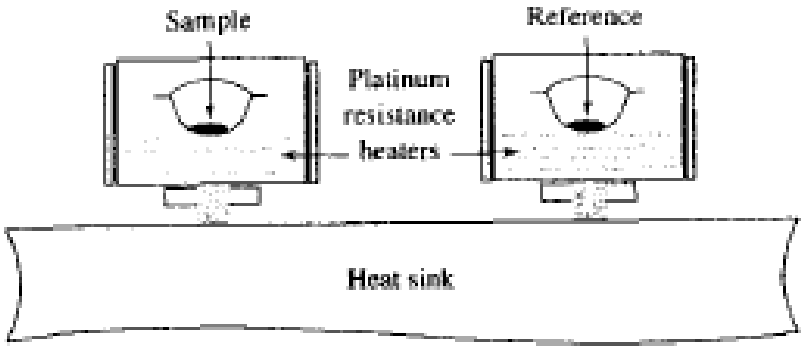
بسبب عدم تغير المحتوى الحراري ، يلاحظ وجود قمتين عاليتين ومنخفظين في الشكل ذاته .وتعود هاتان القمتان الى العملية الباعثة للحرارة(exothermic process) والتي تؤدي الى رفع درجة الحرارة من النموذج ،لذلك نلاحظ ارتفاع درجة حرارة النظام الكلي. العلامة الدنيا او الاقل (الانصهار) نتجت من العملية الماصة للحرارة (endothermic process) والتي يتم فيها امتصاص الحرارة من قبل المادة المحللة .عندما سخنت الى درجة حرارة معينة بعض البوليمرات غير المنتظمة بدأت بالتبلور الى بلورات صغيرة جدا وهي مسؤولة عن القمة الاولى للعملية الباعثة للحرارة في الشكل ،اما القمة الثانية فتعود الى العملية الماصة للحراة وتتضمن كذلك عملية صهر البلورات الصغيرة اما القمة الثالثة فهي باعثة للحرارة وهي ممكن ان تواجه فقط في حال التسخين مع وجود الهواء او الاوكسجين .لذا فان هذه القمة ناتجة من اكسدة البوليمر الباعثة للحرارة. التغير السالب الاخير في درجة الحرارة يعود من التحلل الماص للحرارة للبوليمر لينتج منه نواتج مختلفة مثل ما موضح في الشكل . قمة (ΔH) نتجت من التغيرات الفيزيائية والتفاعلات الكيميائية معا والتي تحفز بواسطة تغير الحرارة في النموذج. العمليات الفيزيائية الماصة للحرارة تتظمن الانصهار ،التبخر ، التصعيد ،الامتصاص ،وعملية عكس الامتصاص والتبلور كلتيهما بصورة عامة باعثان للحرارة .والتفاعلات الكيمياوية ممكن ان تكون باعثة او ماصة العمليات الماصة تتضمن على ازالة الماء ،الاختزال في الجو الغازي ،وعمليات التحلل الباعثة للحراة تتضمن الاكسدة بوجود الاوكسجين او الهواء ،البلمرة ،وتفاعل العوامل المساعدة.

3- طرق المسح المسعري التفاضلي differential scanning calorimetry(DSC)

المسعري التفاضلي (DSC) غالبا ما يستخدم في طريقة التحليل الحراري، وقد يأتي في المقام الأول بسبب بساطته وتوفره وسرعته في التحليل. وفيه توضع العينة والمادة القياسية على حامل وسط الجهاز ، وتسجل درجة الحرارة من الفرق في درجات الحرارة بين العينة والمادة القياسية سواء عند المنحني الناتج من التبريد بمعدل سرعة ثابتة (على سبيل المثال 5 درجة مئوية في الدقيقة) او بصورة منتظمة. بالرغم من التشابه بين DSC وDTA في البرنامج الحراري والقياس الكمي للعينة الا ان الفرق الأساسي هو أن DSC هي طريقة مسعرية تتضمن قياس الاختلاف في الطاقة المقاسة اما DTA يسجل الفرق بين درجات الحرارة.

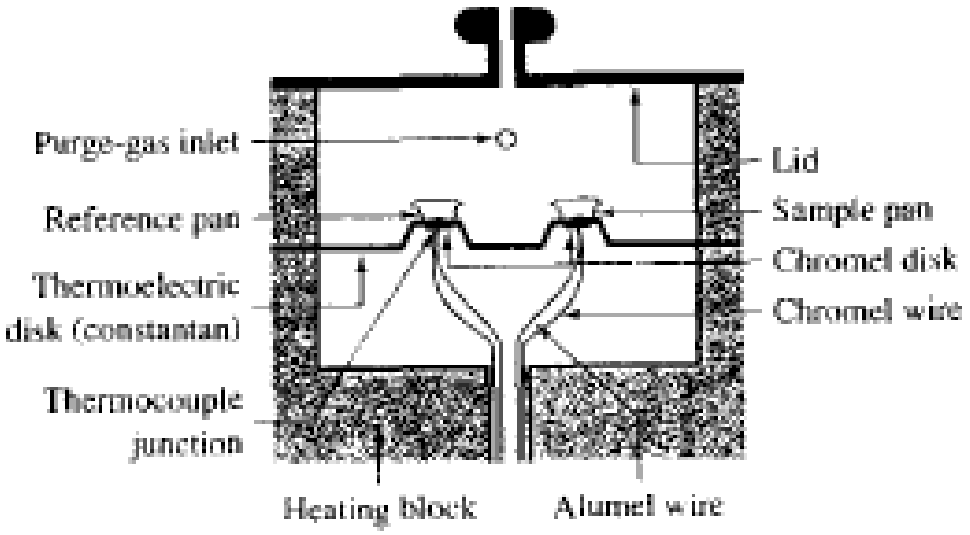
الاجهزة instrumentations: توجد ثلاثة انواع من الاجهزة:

a- جهاز ذات القدرة المعوضة(power-compensated DSC : في هذه التقنية تحفظ العينة والمادة القياسية بعضهما البعض ضمن طاقة تجعل درجتي حرارتيهما متساويتين، بينما تتم عملية تسخينهما او تبريدهما بسرعة خطية .مكونات هذا الجهاز من حامل العينة ووحدة التسخين مبينة في الشكل (16-10). توجد وحدتان تسخين صغيرتان ومستقلتان تسمح لقياس المعدلات السريعة من تسخين او تبريد او موازنة.هذه الوحدات هي جزء من الوعاء الحراري الكبير للتسخين المسيطر. تقاوم العينة والمادة القياسية البلاتين الحراري ليبقيا تحت سيطرة تسجيل درجة الحرارة المقابلة، وتحتفظان بالبرنامج الحراري عن طريق الطاقة المزودة الى اماكن تسخينهما. يسجل الجهاز تدفق الطاقة التي تحتاجها كل من العينة والمادة القياسية عند نفس درجة الحرارة كدالة لدرجة الحرارة المبرمجة.هذا النوع من الاجهزة ذات حساسية اقل من اجهزة التدفق الحراري heat-flux DSC ولكن زمن الاستجابة للتحليل اسرع وادق مما يجعلها مناسبة للدراسات الحركية للمادة التي تتطلب السرعة تحت ضبط فائق لدرجة الحرارة.



شكل(16-10) جهاز ذات القدرة المعوضة

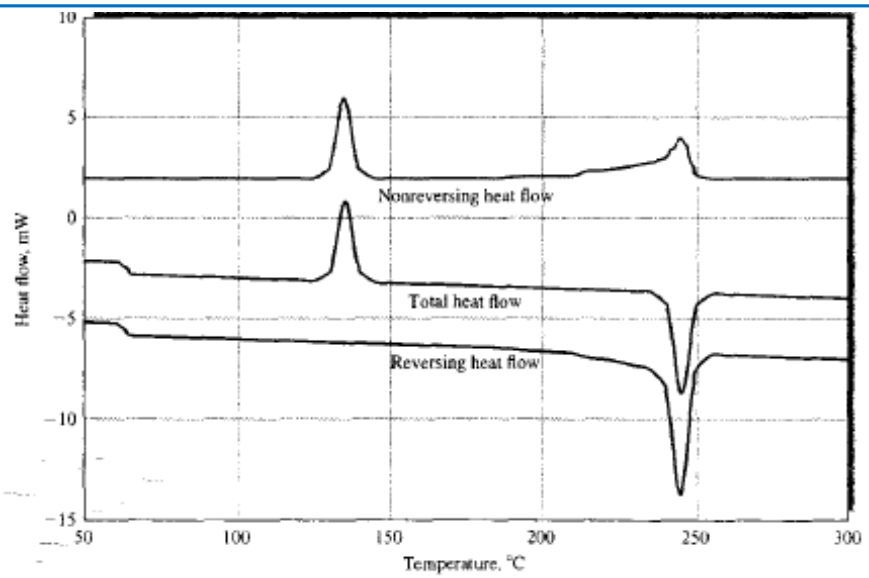
b - جهاز ذو التدفق الحراري heat-flux DSC :يقاس التدفق الحراري لكل من العينة والمادة القياسية بينما درجة حرارة العينة تتغير بسرع ثابتة.تسخين كلاهما عن طريق وحدة التسخين الفردية عبر قرص كهروحراري ثابت كما في الشكل (14-11).السريان الحراري التفاضلي لحاويتي العينة والمادة القياسية يتناسب طرديا مع اختلاف النواتج لحدود المزدوجات الحراري(thermocoupling) .



شكل(16-11) جهاز ذو التدفق الحراري

c - جهاز المسح المسعري التفاضلي المحدث modulated DSC

تستخدم هذه التقنية نفس عمليات التسخين وتنظيم الخلية الا انها تستخدم الدالة الجيبية على البرنامج الحراري للحصول على تسخين مايكروي او دوائر تبريد لدرجة الحرارة ذات الزيادة او النقصان المضطردة. باستخدام طريقة تحويل فورير التي تفصل الاشارات الى جزئين احداهما اشارة السريان الحراري العكسي التي ترتبط بمكونات السعة الحرارية للمخطط الحراري، والاخرى اشارة السريان الحراري غير العكسي التي ترتبط مع العمليات الحركية. خطوة التحول مثل تحول الزجاج يحدث عند اشارة السريان الحراري العكسي اما عمليات الامتصاص او الانبعاث الحراري فقد تظهر في كلتا الاشارتين الشكل(16-12).



شكل(16-12) جهاز المسح المسعري التفاضلي المحدث

التطبيقات

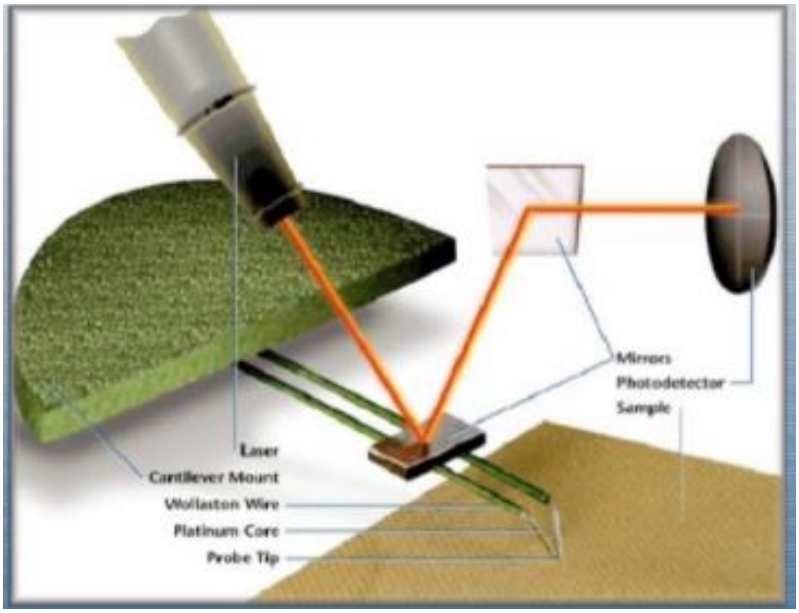
a- دراسة تحول الزجاج.

b- متابعة عمليات بلمرة المواد وسرعة عمليات التبلمر.

c- الدراسة الحركية لتفاعل المواد ومنها البوليمرات.

4- <u>التحليل الحراري المايكروي</u>.Microthermal analysis

التحليل الحراري المايكروي والمرتبط بالتحليل الحراري من خلال مجهر الطاقة الذري اي نفس عائلة تقنيات المسح للمجهر المايكروحراري والذي يختص **بدراسة** الخواص الحرارية للسطوح التي تكون دالة للحرارة والتي بدورها تعطي صور حرارية للنواتج. في هذه التقنية يتم استبدال الجزء الحساس من المجهر المايكروحراري بمسبار حساس حراري(thermally sensitive probe) مثل المزدوج الحراري (thermocouple).الصور المجهرية للمسبار الحراري يمكن توضيحها في الشكل(16-13).



شكل(16-13) جهاز التحليل الحراري المايكروي

اسئلة الفصل السادس عشر

1-التفاعلات التركيبية الحرارية لا تتضمن تغيير في وزن النظام الا انه يمكن تتبع سير التفاعل عن طريقة التغيير في المحتوى الحراري.

2-وضح شكل منحنى التحليل الحراري الوزني TG- curve والمركبات الوسطية والنهائية لتحليل اوكزالات الكالسيوم المائية $CaC_2O_4. H_2O$.

3-ما التحليل الوزني الحراري وضح ذلك باختصار؟

4-لماذا يستخدم غاز النيتروجين في التحاليل الوزنية الحرارية؟

5-تفقد الاملاح الرطبة الماء عند تسخينها بشكل مميز، كيف تتوقع الهيئة العامة للمخطط الحراري في تغيير معدل التسخين ؟

6-هل تحتاج العينة في التحاليل الوزنية الحرارية ان تكون متطايرة؟

7-ماهي المادتان اللتان يتم تحليلها عند قياس المخطط الحراري ؟

الفصل السابع عشر

مقياس مطياف الكتلة Mass spectrometer

مقياس الطيف الكتلي: هو جهاز لقياس الكتلة الذرية للجزيئات والذرات واكتشافها على أساس نسبة الكتلة إلى الشحنة (m / z). وتعرف الكتلة نسبة الى العدد الكتلي وهو العدد الإجمالي للبروتونات والنيوترونات في نواة الذرة. وهي تختلف باختلاف الذرات والجزيئات. وعلى سبيل المثال تحتوي ذرة الكربون على 6 بروتون زائداً 6 نيوترونات في النواة فإن عددها الكتلي هو 12. ومطياف الكتلة تقنية مفيدة يتم فيها تحويل العينة إلى أيونات موجبة الشحنة عن طريق القصف الإلكتروني bombarding ويتم فصل الجسيمات وفقاً الى نسبة الشحنة الى كتلتها وفي النهاية يتم اكتشافها بالكاشف. وطيف الكتلة يرسم العلاقة بين الوفرة النسبية مقابل نسبة الكتلة / الشحنة (m / z) .

تقديم العينة:

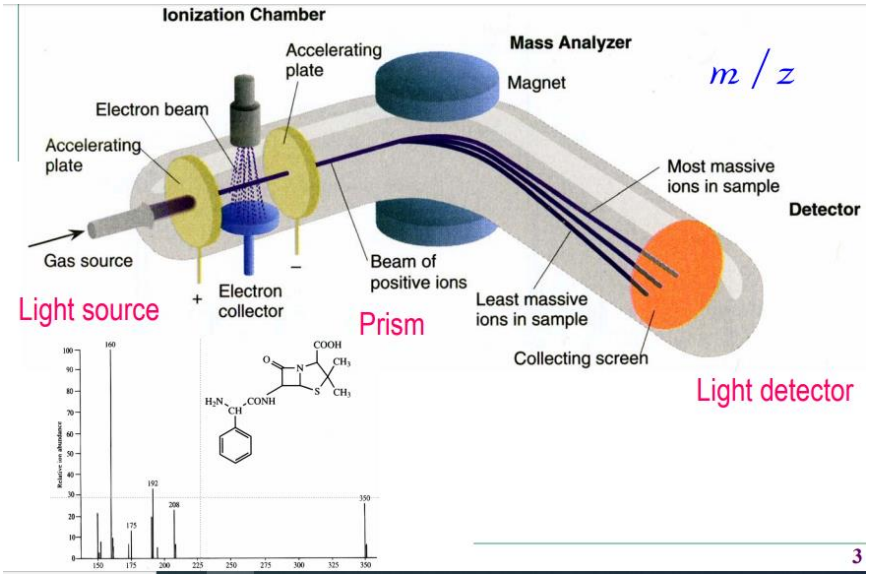
يوجد بالجهاز أكثر من نظام لوضع العينة حتى يمكن تحليل العينات سواء كانت غازية أو سائلة أو صلبة. وتحتوى وحدة إدخال العينات على فتحتين إحداهما لإدخال المواد الغازية والسائلة Gas and Liquid inlet والأخرى لإدخال المادة الصلبة Solid inlet. vaporization وقبل إدخال العينة يجب أن يكون هناك تحقيق شيئين:

1- يتم تقديم العينة بوضعها على ملف مسبار ثم يتم إدخاله من خلال عملية التفريغ الجزئي.

2- يجب تبخير العينة حتى تصل الى منطقة التأين من مطياف الكتلة.

الخطوة الأولى في التحليل الطيفي الكتلي للمركبات هي إنتاج أيونات الطور الغازي للمركب عن طريق التأين الإلكتروني بشكل أساسي ويخضع هذا الأيون الجزيئي للتشظية fragment ions وكل أيون منتج أولي مشتق من الأيون الجزيئي يخضع بدوره كذلك للتشظية وما إلى ذلك. ويتم فصل الأيونات في مطياف الكتلة وفقًا لنسبة الكتلة إلى الشحنة ويحصل اكتشافها بما يتناسب مع وفرتها. وهكذا يتم إنتاج طيف كتلي للجزيء ويعرض النتيجة في شكل مخطط لوفرة الأيونات مقابل نسبة الكتلة إلى الشحن. وتوفر الأيونات معلومات تتعلق بطبيعة وبنية جزيء سلائفها. وفي طيف مركب نقي يظهر الأيون الجزيئي إن وجد بأعلى قيمة لـz / m متبوعاً بأيونات تحتوي على نظائر أثقل ويعطي الكتلة الجزيئية للمركب.والشكل التالي يمثل الاجزاء الرئيسة للجهاز من

تقديم العينة وانتاج أيونات غازية من المادة محل الدراسة وتحليل الأيونات إلى خصائصها.

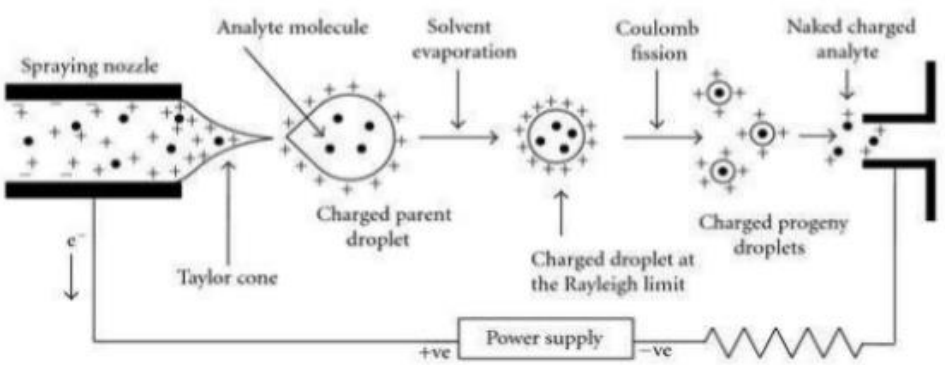


شكل(17-1) مطيافية الكتلة

المكونات العامة لجهاز مطياف الكتلة

اولا- عملية ترذيذ العينة Electrospray

وهي عملية توليد ايونات من المحاليل المائية او المحاليل العضوية. ويتم دفع العينة من خلال إبرة ضيقة بجهد (3.5 كيلو فولت) يتسبب الجهد على الإبرة في أن يكون الرش مشحوناً كما هو في المرذاذ المذكور لاحقا وبالتالي يتم إنشاء قطرات صغيرة جدًا وهي مشحونة على أسطحها بكثافة من الشحنات الكهربائية وهي دالة بحجمها وأصغر قطيرة تكون أكبر كثافة للشحنة الكهربائية وهكذا مع انخفاض حجم القطرات. وهناك التنافر بين القطرات المشحونة بشكل متبادل عند هذه النقطة وتبدأ الأيونات في ترك القطرة وتقاد الأيونات إلى محلل الكتلة.



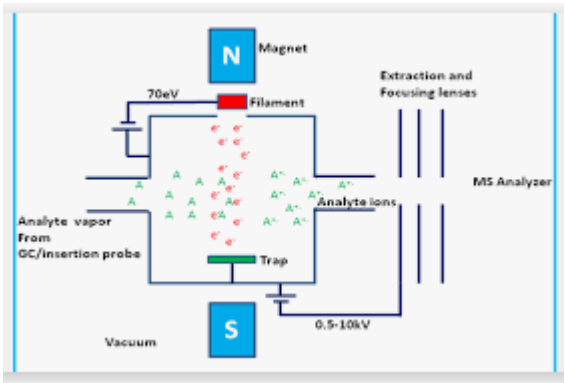
شكل(17-2)جهاز ترذيذ العينة

ثانيا- مرحلة التأين التأين الكهربائي: هو أكثر أنواع التأين شيوعًا ويتم قصف العينة بالكترونات تأتي من خيوط اسلاك ساخنة وتعمل هذه الإلكترونات كتيار بين الكاثود والأنود. عندما تمر العينة عبر تيار الإلكترون تقوم الإلكترونات عالية الطاقة في التيار بإخراج الإلكترونات من العينة لتكوين أيونات جزيئية molecular ion .

الطرائق المختلفة لعملية التأين:

أ- التأين الإلكتروني Electron ionization

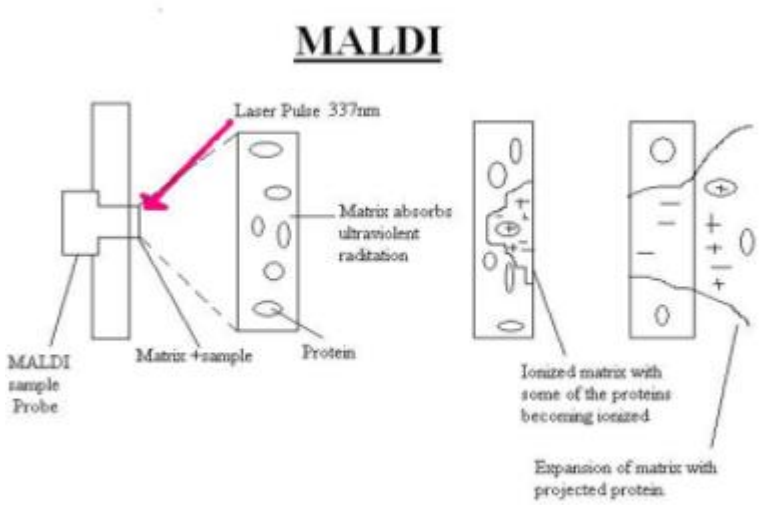
تعرف أيضًا باسم طريقة تاثير القصف الإلكتروني ويتم تسخين العينة لتبخيرها وتسليم العينة في مرحلة الغاز إلى منطقة التأين الإلكتروني. وهنا يسلط شعاع من الإلكترونات بطاقة 70 الكترون فولت على جزيئات العينة التي تؤدي إلى تأينيها.



شكل(17-3) التأين الالكتروني

ب- التأين او الانتزاع الليزري Matrix-assisted laser desorption/ionization(MALDI)

تُبخر وتُؤين العينه بشكل غير محطم لها ولكلتا الجزيئات الكبيره والجزيئات الصغيرة. وتتم بلورة المادة التحليلية أولاً مع زيادة مركب مادة العينة واذا كانت مركبات العينة هي أحماض عضوية تمتص في مدى الأشعة فوق البنفسجية. نبض شعاع UV يركز على سطح البلورة وتمتص مادة العينة الإشعاع وتتبخر ويتم أيضًا تبخير المادة التحليلية ونقلها مع العينة وتتضاعف كمتقبل للبروتون وبالتالي يقوم أيضًا بتأيين المادة التحليلية لعينات مختلفة مثل2.5 بروتينات حمض البنزويك ثنائي هيدروكسي وببتيدات قليل النوكليوتيدات وبروتينات وحامض سينابينيك والببتيدات.



شكل(17-4) التأين والانتزاع الليزري

ثالثا- مرحلة تسريع الايونات الجزيئية: هي خطوة بسيطة إذ يتم وضع الأيونات بين مجموعة من اللوحات المتوازية للشحنات. ويتم بعد ذلك صد الأيونات بلوحة واحدة

وتنجذب إلى الأخرى. ويوجد شق في الصفيحة تنجذب إليه الأيونات وتجبر قوة التجاذب والتنافر الأيونات عبر الشق بمعدل متسارع ويمكن ضبط سرعة التسارع عن طريق تغيير شحنة الألواح. ويتم تسريع الأيونات (+) باستخدام أنود (−) باتجاه مغناطيس التركيز.

رابعا− مرحلة انحراف الايونات الموجبة: تنحرف الأيونات عن طريق المجال المغناطيسي المحيط بالجهاز ويعتمد مقدار الانحراف على كتلة وشحنة الأيونات.

والأيونات الثقيلة ذات الشحنة الموجبة 2+ أو أكثر تنحرف أقل والأيونات الأخف ذات الشحنة الموجبة الأولى تنحرف أكثر باتجاه الكاشف. ويتم تحديد نسبة الكتلة إلى الشحن (m / z)من الأيون الذي يصطدم بالكاشف.

عند جهد معين (1−10 كيلو فولت) سيكون لكل أيون طاقة حركية:

$$mv^2 = eV \quad ½.....1$$

حيث:

m = كتلة الأيونات, v = سرعة الايونات بعد التسريع, e = الشحن على الأيونات

V=، الجهد المطبق. وعندما تدخل الأيونات إلى مجال مغناطيسي ، يكون مسارها منحنيًا يُعطى نصف قطر الانحناء عَبرَ:

$$r = mv/eH.....2$$

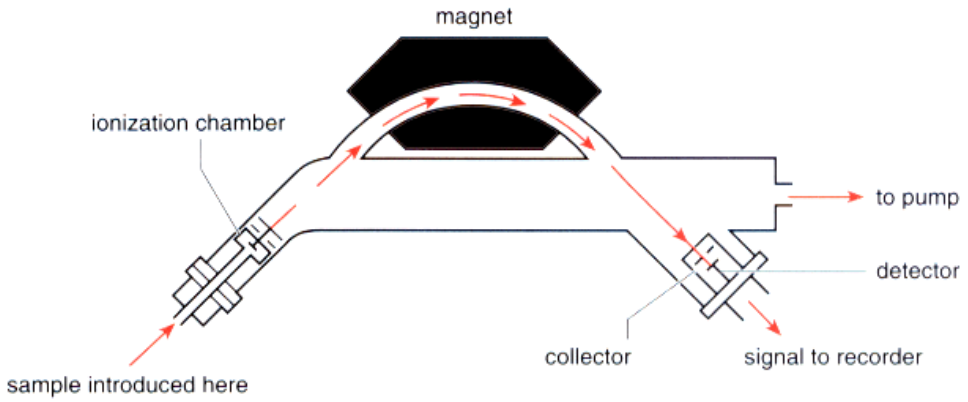
H = قوة المجال المغناطيسي , r= نصف قطر مسار الأيونات. واذا تم الجمع بين المعادلتين لإخراج السرعة:

$$m/e = H^2r^2/2V.....3$$

اذ:

H شدة المجال المغناطيسي ، r قطر المسار الدائري الذي تسير فيه الأيونات، V جهد التعجيل. ويتوقف مقدار الإنحراف deflection على نسبة m/z حيث تنحرف الأيونات الكبيرة الوزن بدرجة أقل من الأيونات الخفيفة على حسب المعادلة السابقة.

والشكل التالي يمثل انحراف الايونات الجزيئية.



شكل(17-5) انحراف الايونات الموجبة بأتجاه الكاشف

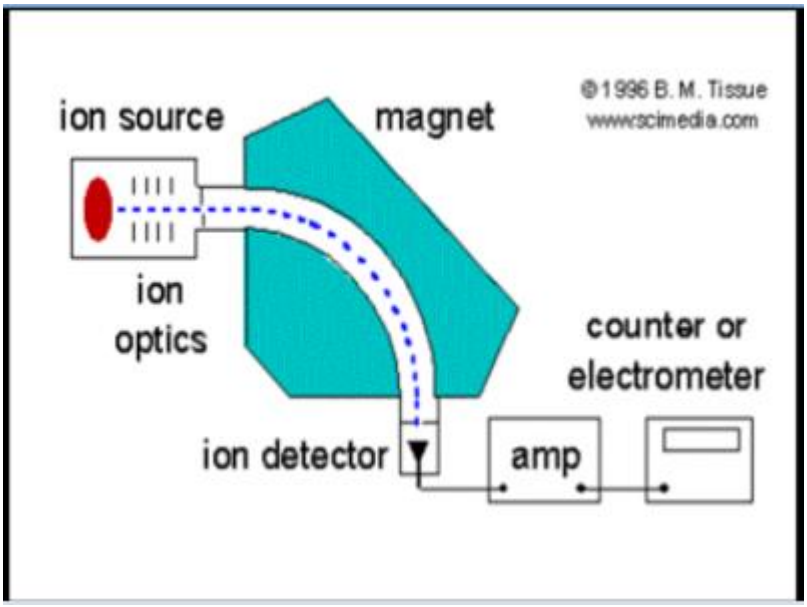
خامسا- طرائق فصل الكتلةMass analyzer

بعد التأين تكون الأيونات الموجودة في الطور الغازي تدخل محل الكتلة وتفصل الأيونات حسب نسبة الكتلة الى الشحنة وضمن مسار محدد بين المجال الكهرومغناطيسي او الفترة المستغرقة من الايون المتحرك على مسافة ثابتة.

طرائق فصل الأيونات: وتوجد عدة أنظمة مختلفة فى فصل الأيونات، وهى:

أ- القطاع المغناطيسيMagnetic sector mass analyzer .

بنى J.J Thompson أول مقياس طيفي للكتلة واستخدم مغناطيساً لقياس قيمة m / z للايونات ويفصل الأيونات في مجال مغناطيسي وفقاً لشحنة الأيون وزخمه ويعمل المجال الكهربائي من 1 إلى 10 كيلو فولت على تسريع الأيونات من منطقة المصدر في القطاع المغناطيسي بمجرد وصوله إلى المجال المغناطيسي. فإن الحزمة الأيونية تنحني في قوس بوساطة المجال المغناطيسي بنصف قطر القوس ويعتمد على زخم الأيون وشحنته وقوة المجال المغناطيسي. وكلما زاد زخم الأيونات زاد نصف قطر القوس وبالتالي فإن فصل الأيونات يقوم على أساس قوة الزخم ومن هنا تسمى أيضًا أجهزة التحليل المغناطيسي محللات الزخم momentum analyzers .

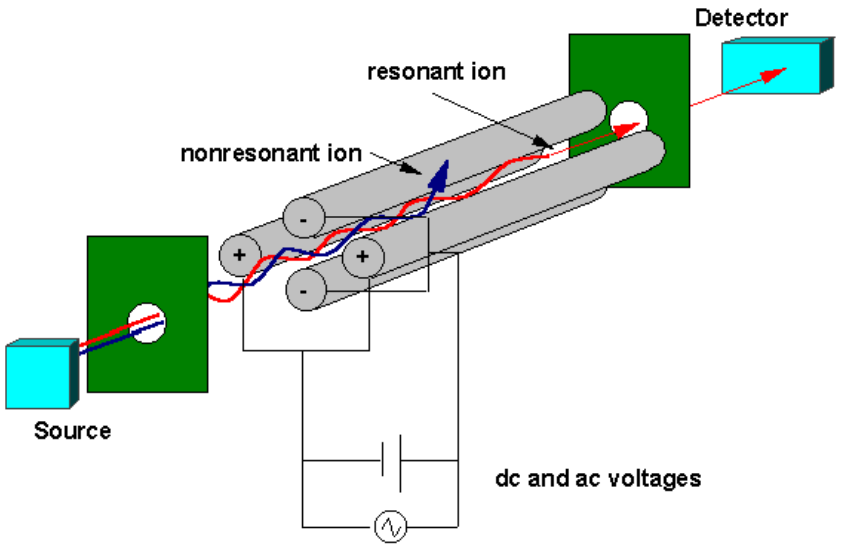


شكل(17-6) محلل الايونات

ب- فصل الأيونات باستخدام المجال الناتج عن أربعة أقطاب كهربية The quadrupole analyzer

في مطياف الكتلة يوجد مجال كهربائي يسرع الأيونات من منطقة المصدر وفي المحلل الرباعي يتكون من اربعة قضبان او أقطاب كهربائية مرتبة عبر بعضها البعض.

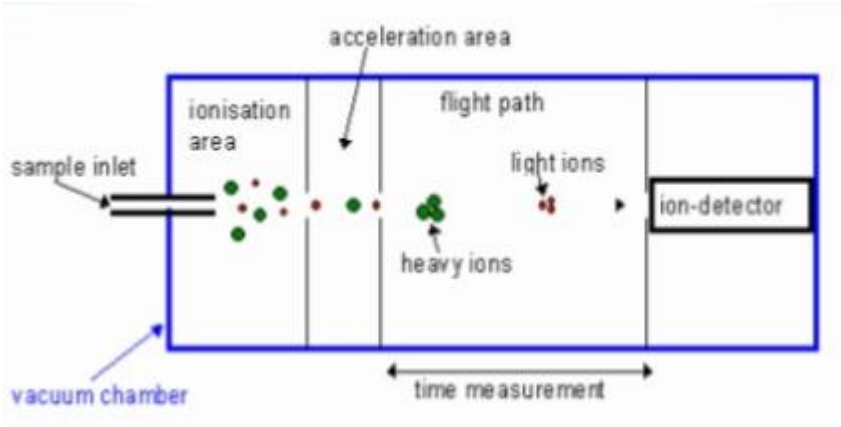
الأيونات تتحرك عبره وفقًا لنسبة لـ m / z. ويُسمح بواحد فقط من الحزم الأيونية المنفصلة تصطدم بالكاشف ويعتمد الفصل وفقًا لنسبة m / z وعلى تردد الراديو الحالي والفولتية المطبقة على هذه الأقطاب الكهربائية وتنتج هذه الفولتية تياراً كهربائياً متذبذباً. والمجال الذي ينقل الأيونات وفقاً لقيمة الشحنة الى الكتلة.



شكل(17-7) محلل رباعي الاقطاب

ج- فصل الأيونات على أساس اختلاف سرعتها Time of flight

Analyze(TOF)ويستخدم هذا النوع من المحللات في الغالب مع MALDI ويستخدم مجالاً كهربائياً لتسريع الأيونات من خلاله وثم يقيس الوقت الذي تستغرقه للوصول إلى الكاشف. وستصل الأيونات الأصغر وزنا إلى الكاشف أولاً لأنها ستحقق سرعات كبيرة وتكون للأيونات الأكبر وزنا سرعات أقل اي تصل إلى الكاشف في وقت متأخر. والشكل انفاً يوضح ذلك:



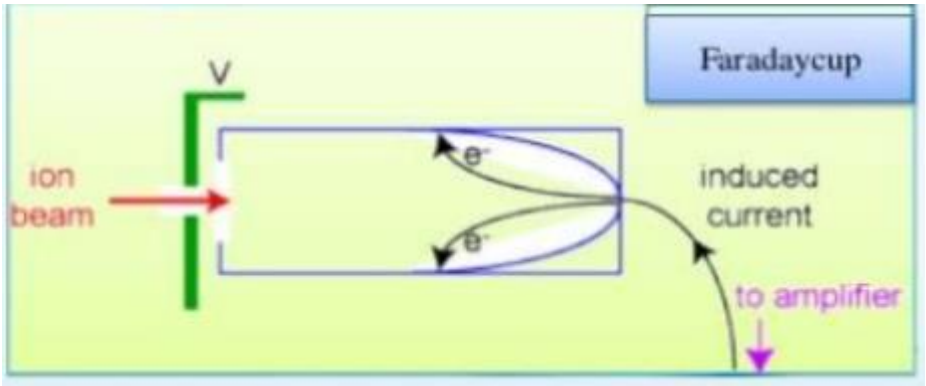
شكل(17-8) فصل الايونات على ضوء سرعتها.

سادسا- الكواشف detectors

العنصر الأخير في مطياف الكتلة هو الكاشف الذي يولد إشارة تيار من أيونات الحادثه عن طريق توليد إلكترونات ثانوية يتم تضخيمها بشكل أكبر .ومنها أنواعه كأس فارادي ومضاعف الإلكترون ودينود التحويل المضاعف الضوئي.

أ- كأس فارادي Faraday Cup

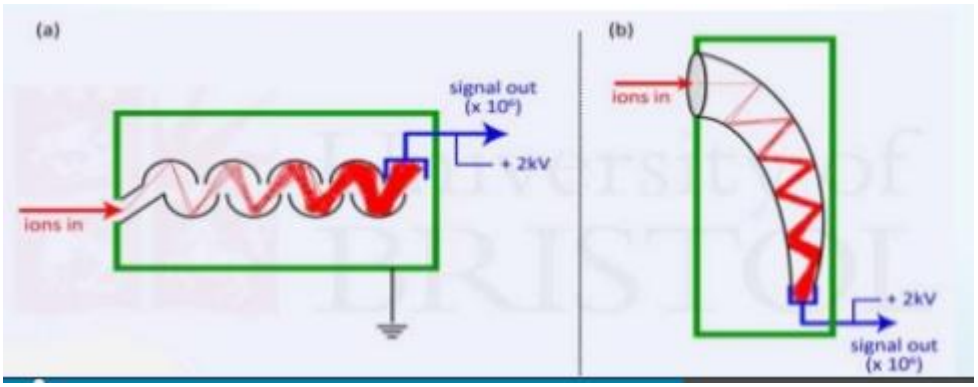
المفهوم العام هو تغيير في الشحنة على لوح معدني ينتج عنه تدفق الإلكترونات الذي يخلق تيار عندما يضرب أيون واحد على سطح داينود(اوكسيد البريليوم او مزيج من السيزيوم والانتيمون) في كأس فارادي وينتج عنه طرد عدة الإلكترونات يؤدي هذا الطرد إلى إحداث تيار في الكأس.



شكل(17-9) كأس فارادي

ب- مضاعف الإلكترون Electron multiplier

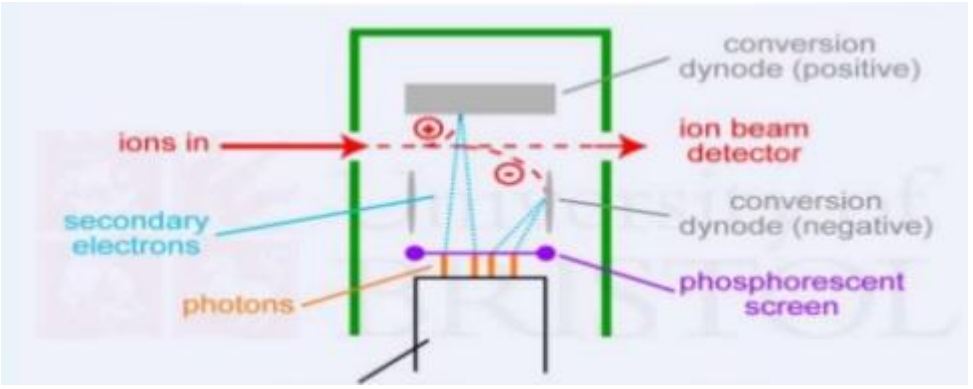
يستخدم هذا الكاشف سلسلة من الدايودات المحفوظة في جهود أعلى تباعا وهكذا فإن الإلكترونات التي يطلقها الدينود الأول (الذي تصدم الايونات عليه اولا) إلى داينود الثاني لأنه يحتوي على جهود أعلى حساسية للغاية.



شكل(17-10) مضاعف الإلكترون

ج- داينود التحويل المضاعف الضوئي Photomultiplier Conversion Dynode

تضرب الأيونات الداينود الذي ينتج عنه انبعاث الإلكترونات وهذه الإلكترونات تعمل لضرب شاشة الفوسفور التي تُطلق فوتونات يتم الكشف عنها بمضخم ضوئي.



شكل(17-11) **دايود التحويل المضاعف الضوئي**

سابعا- نظام التفريغ:

من أجل العمل بطريقة فعالة يمكن التنبؤ بها تتطلب أجهزة تحليل الكتلة بمستويات عالية من الالتفريغ بحيث تكون الأيونات التحليلية قيد التحقيق قابلة للاستجابة وحساسة للمكونات الكهروستاتيكية للأداة. وتُستخدم تقنية التفريغ لإزالة غالبية الجزيئات الخلفية (الهواء) حيث إن انحراف الأيونات بمقياس الطيف على مسار معين يحدث فقط تحت تأثير المجالات الكهربائية والمغناطيسية و / أو الترددات الراديوية والتي قد تؤدي بخلاف ذلك إلى الانحراف بسبب الاصطدام. والمستوى العالي من الفراغ داخل الجهاز يمنع انحراف أيون التحليل عن المسار المحدد ويساعد عمليات تحرك وفصل الأيونات بالطرق التالية:

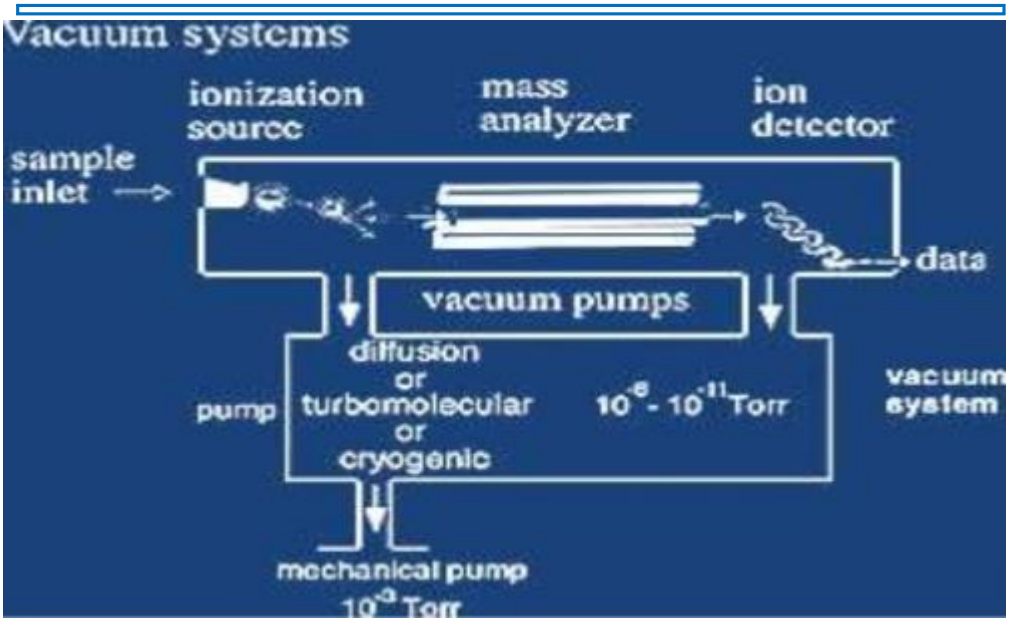
أ- توفير مسار متوسط حر مناسب لأيونات التحليل.

ب- تسهيل مسارات الأيونات الخالية من الاصطدام.

ج- تقليل التفاعلات الجزيئية الأيونية.

د- تقليل التداخل في الخلفية.

وأمثلة على مضخات التفريغ: المضخات الدوارة والمضخات الأمامية والمضخات التوربينية الجزيئية.



شكل(17-12) نظام التفريغ

اهم تطبيقات مطياف الكتلة

الأدوية: وتشمل اكتشاف الأدوية والكيمياء التجميعية والتحضيرات الدوائية والتمثيل الغذائي للدواء. ومكونات الكتلة وفقاً لنسبة الكتلة إلى الشحن الى الكشف عن الأيونات وتسجيل الوفرة النسبية لكل نوع من الأنواع الأيونية التي تم تحليلها.

الاستخدامات السريرية: وتشمل فحص حديثي الولادة وتحليل الهيموغلوبين واختبار المخدرات.

البيئة: وتشمل الهيدروكربونات الاروماتية متعددة الحلقات ومركبات ثنائي الفينيل متعدد الكلور وجودة المياه وتلوث الأغذية.

الجيولوجية: وتشمل تكوين الزيت.

التكنولوجيا الحيوية: من ضمنها تحليل البروتينات والببتيدات

تحديدات تطبيق مطياف الكتلة ومكونات الكتلة وفقاً لنسبة الكتلة إلى الشحن الى الكشف عن الأيونات وتسجيل الوفرة النسبية لكل نوع من الأنواع الأيونية التي تم تحليلها.

1- لا يعطي معلومات هيكلية مباشرة

2- يحتاج إلى مركبات نقية

3- إنه صعب مع المركبات غير المتطايرة

4- لا يستطيع مطياف الكتلة التمييز بين أيزومرات المركب.

5- أجهزة قياس الطيف الكتلي لا يمكنها التمييز بين بدائل (o-) ortho و meta (m-) و para (p-) للمركبات الاروماتية.

6- فشل مطياف الكتلة في تحديد الأيونات المتشظية المماثلة في الهيدروكربونات.

وتنتج عملية التأين أحيانًا كثيراً من الشظايا لذلك لا يمكنها تحديد ما إذا كان أيون ذو كتلة أكبر هو أيوناً جزيئياً للهيدروكربونات.

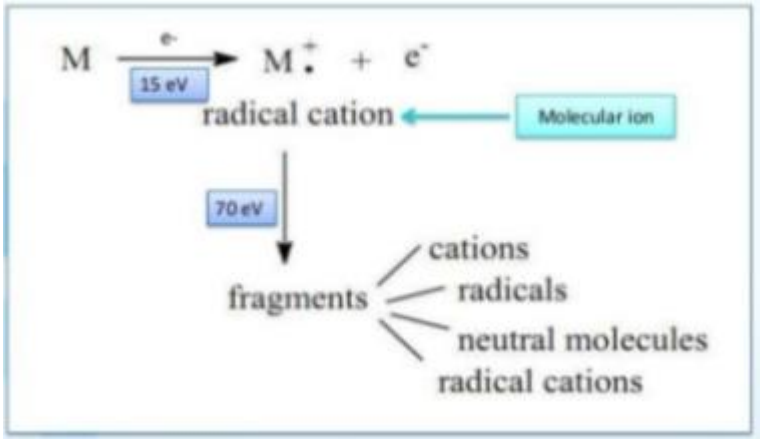
ترادف مطياف الكتلة TANDEM MS(MS/MS)

يتم تحليل المخاليط المعقدة الآن مثل الببتيدات دون سابق تنقية بوساطة الترادف MS وتستخدم ما يعادل 2 من مطياف الكتلة مرتبط في سلسلة ويفصل مقياس الطيف الكتلة الأول ايونات الببتيدات على اختلافاتهم في الكتلة عن طريق ضبط شدة المجال للمغناطيس الأول ويمكن توجيه الببتيد المفرد إلى مطياف الكتلة الثانية حيث يتم إنشاء شظايا وكتلتهم. ويمكن دمج جهازي التحليل الكروماتوجرافي الغازي وجهاز تحليل الطيف الكتلي معا ويسمى جهاز GC-MS حيث يسمح للعينة بالدخول عن طريق فتحة تسرب ضئيلة جداً من عمود جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي إلى مطياف الكتلة. ويعُدّ دور جهاز التحليل الكروماتوجرافي الغازي فى هذه الحالة مجرد وسيلة لفصل مخاليط المركبات.

التكسير (الانشطار) **Fragmentation**

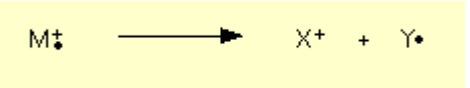
وفيها يتم تكسير الروابط الضعيفة فى الأيون الجزيئى الى شظايا أو أيونات أصغر فى الوزن الجزيئى fragment ions

عملية التكسير Fragmentation process: عادة ما ينتج عن قصف الجزيئات بحزمة إلكترونية بطاقة تتراوح بين 10-15 فولت وتأين الجزيئات عن طريق إزالة إلكترون واحد (تكوين أيون جزيئي) . و عندما تزداد طاقة شعاع الإلكترون بين 50-70 فولت تكتسب هذه الأيونات الجزيئية إثارة عالية تؤدي إلى تكسيرها إلى أجزاء مختلفة.

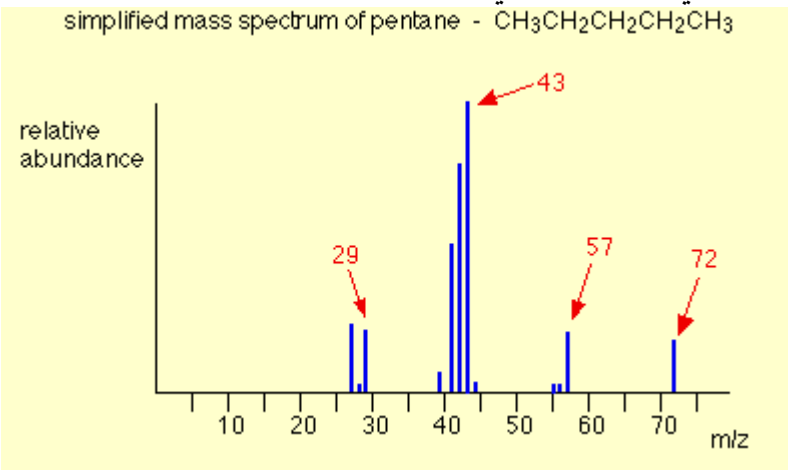


شكل(17-13) تكسير الجزيئات

والأيونات الجزيئية غير مستقرة من حيث الطاقة وبعضها ينقسم إلى كتل أصغر. وأبسط حالة هي أن الأيون الجزيئي ينقسم إلى جزأين أحدهما أيون موجب والآخر جذر حر غير مشحون.



سوف ينتقل الأيون X^+ عبر مطياف الكتلة تمامًا مثل أي أيون موجب آخر وسينتج خطاً على مخطط الطيف. جميع أنواع تجزئة الأيونات الجزيئية الأصلية ممكنة وهذا يعني ستحصل على مجموعة كاملة من الخطوط في الطيف الكتلي. وعلى سبيل المثال يبدو الطيف الكتلي للبنتان كما يأتي:



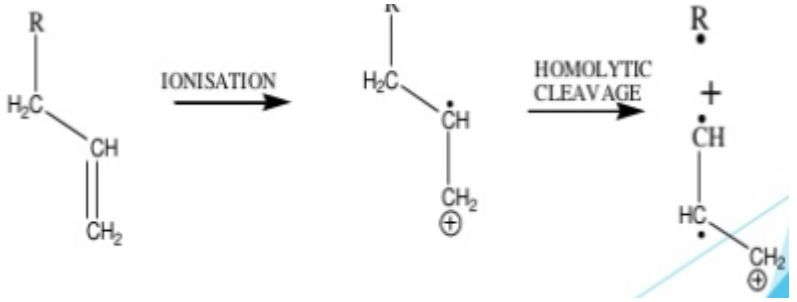
شكل(17-14) الطيف الكتلي للبنتان

في مخطط الطيف الذي يوضح الطيف الكتلي للبنتان تظهر القمة عند (m / z = 72)عن أثقل أيون جزيئي يمر عبر الجهاز ويمثل الايون الجزيئي الاساس للمركب molecular ionاو parent peak. وهو الأيون الذى ينتج من فقدان إليكترون واحد من الجزىء (M^+) وهذا الأيون له كتلة مماثلة للوزن الجزيئي للمركب وعلى ذلك فان تمييز هذا الأيون يُعد مهماً في تحديد الوزن الجزيئي للمركب وكذلك الرمز الجزيئي. ويُطلق على اعلى قمة في هذه الحالة عند (m / z = 43) القمة الاساسية base peak. يُعطى هذا عادةً ارتفاعًا اقصى قدره 100٪ كنسبة مئوية (abundancy) ويتم قياس ارتفاع كل اشارة اخرى بالنسبة لذلك. والقمة الاساسية هي أعلى قمة لأنها تمثل أكثر أيون شظية شيوعًا يتم تكوينه. وسبب ذلك هو وجود عدة طرق يمكن إنتاجه عَبرَها أثناء تجزئة الأيون الأصل أو لأنه أيون مستقر بشكل خاص.

الأنماط العامة للانشطار يحدث تجزئة للأيون الجزيئي في التعديلات التالية:

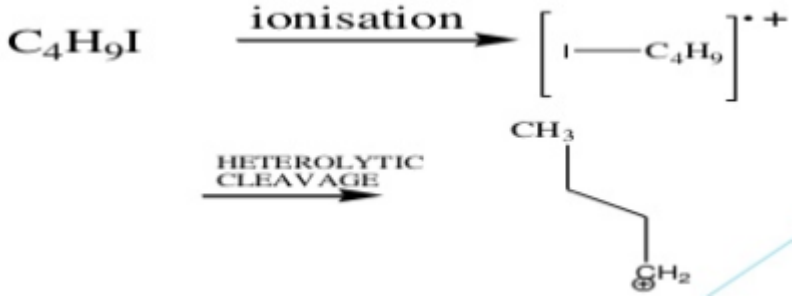
انشطار بسيط Simple cleavage

1- **انشطار** المتماثلHomolytic cleavage في الانقسام الانحلالي يتم نقل الإلكترونات بالتساوي إلى كل من الذرات وتشكل جذراً وكاتيوناً



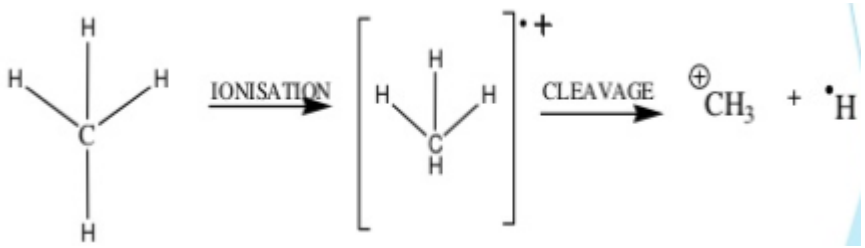
2- الانشطار غير المتجانس Heterolytic cleavage :

التجزئة بحركة إلكترونين :في هذا النوع من الانقسام يتم أخذ إلكترونات من الاصرة بوساطة إحدى الذرات والشظايا عبارة عن كاتيونات وجذر مع شحنة موجبة موجودة على مجموعة الألكيل.



3- انشطار شبه غير المتجانسة Semi heterolytic cleavage

في هذا النوع ينفك الكترون واحد من الاصرة مما يؤدي إلى تكوين جذر وكاتيون .

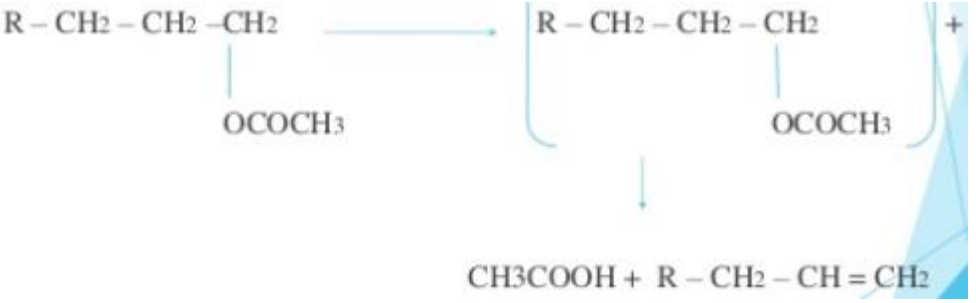


تفاعل إعادة الترتيب Rearrangement reaction

ينطوي على انقسام الروابط وتشكيل روابط جديدة أي يتطلب تغييرات في اصرتين على الأقل لذا فإن الأيونات المنتجة ليست وحدات هيكلية للمركبات الاصلية. وتؤدي إعادة الترتيب بشكل عام إلى فقدان الجزيئات الأصغر

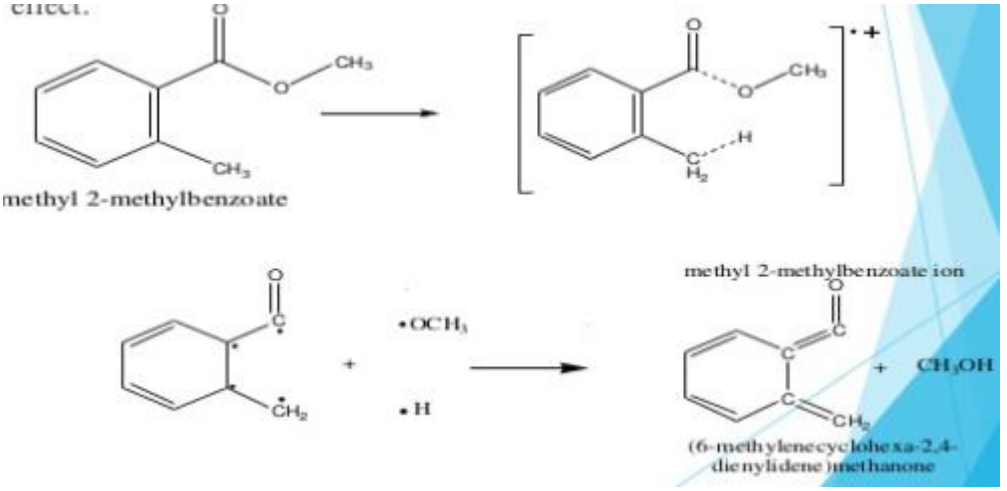
1- تفاعل الحذف Elimination reaction

في عملية التكسير تتم إعاقة الهيدروجين بوساطة مجموعة الهيدروكسيل أو مجموعات الهالوجين أو مجموعة الأسيتات مما يؤدي إلى إزالة الماء أو جزيئة متعادلة.



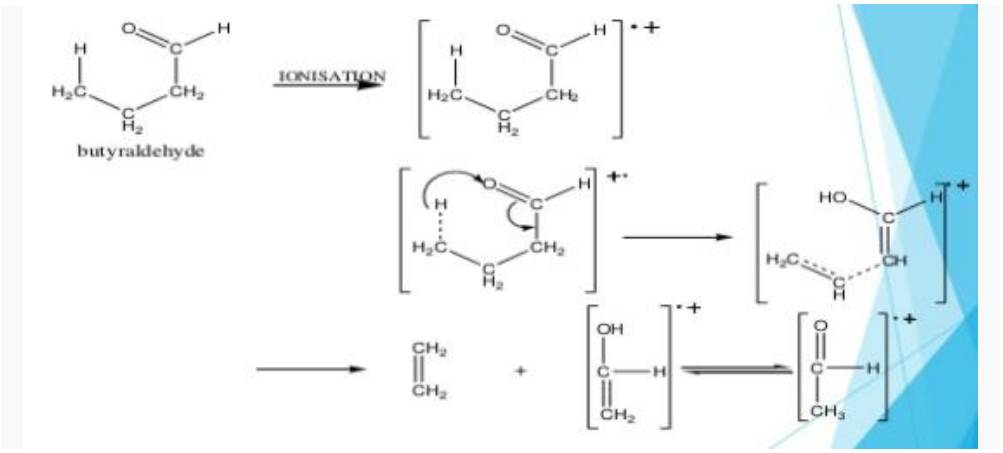
2- تفاعل تأثير أورثو Ortho effect reaction

في حالة المركبات الاروماتية المعوضة يساعد التقارب مع الكربون في التخلص من الجزيئةالمتعادلة.



3- تفاعل عادة ترتيب مكلافرتي Mc-Lafferty rearrangement reaction

يخضع الى فقدان جزء ألكين عن طريق إعادة الترتيب الدوري لمركبات الكربونيل (مثل الألدهيدوالكيتونات والأحماض والإسترات والأمينات) والمركبات غير المشبعة التي تحتوي على هيدروجين الفا . وأنه ينطوي على هجرة ذرة الهيدروجين متبوعة بانقسام اصرة γ- hydrogens ثم إعادة الترتيب يؤدي إلى التخلص من الجزيئة المتعادلة.



اسئلة الفصل السابع عشر

1- كيف يتم تسريع إنتاج الأيونات في غرفة التأين؟

2- ما أهمية وجود نظام التفريغ في الجهاز؟

3-أعطى مركب سائل طيفًا كتلياً يظهر أيون جزيئي قوي عند .156 = m / z تظهر أيونات الشظايا الوحيدة عند .29 & 127 = m / z اقترح التركيب الهيكلي لهذا المركب ؟

4-أثناء إجراء تفاعل جديد يلاحظ الكيميائي نتج غاز وأعطت عينة من هذا الغاز طيفًا كتلياً كان فيه الأيون الجزيئي (44 = m / z) هو أكبر قمة أيونية. والقمم المهمة الأخرى لوحظت عند 28 = m / z & .16 = m / z ما هذا الغاز؟

5- ما مدى ارتفاع تسخين العينة عند القيام بمواصفات الكتلة .

6- أي من العبارات التالية خطأ بالنسبة لمطياف الكتلة؟

أ) يستخدم التحليل الطيفي الكتلي لتحديد المركبات غير المعروفة داخل العينة ولتوضيح التركيب والخصائص الكيميائية للجزيئات المختلفة.

ب) تتميز الجسيمات بكتلتها لنسب m/z والوفرة النسبية.

ج) تدرس هذه التقنية بشكل أساسي تأثير الطاقة المؤينة على الجزيئات.

د) يمكن استخدام هذه التقنية في جميع حالات المادة.

الجواب: د والتفسير: يقيس الطيف الكتلي الكتل داخل العينة وتتميز الجسيمات m/z والوفرة النسبية. وتدرس هذه التقنية أساساً تأثير الطاقة المؤينة على الجزيئات ويتم تطبيقها على العينات النقية وكذلك المخاليط المعقدة وهذه التقنية ممكنة فقط في الحالة الغازية.

7- أي من المكونات الرئيسية التالية في التحليل الطيفي الكتلي يتعامل مع تحليل الأيونات في خصائص مكونات الكتلة وفقاً لنسبة الكتلة إلى الشحنة؟

أ) مصدر الأيون ب) المحلل ج) نظام الكاشف د) أنبوب التحليل

لجواب: ب والتفسير: تتضمن العملية الكاملة تحويل العينة إلى أيونات غازية مع أو بدون تجزئة والتي تتميز بعد ذلك بكتلتها لنسب الشحن (m / z) بواسطة المحلل. وفي النهاية سيقوم المحلل الثاني بتحليل شظايا الأيونات المختارة واكتشاف الأيونات الخارجة من المحلل الأخير وقياس وفرتها النسبية مع الكاشف الذي يحول الأيونات إلى إشارات كهربائية.

8- من اكتشف مطياف الكتلة؟

أ) فرانسيس أستون ب) جي جي تومسون ج) إرنست أو.لورانس د) والتر كوفمان

الجواب: ب والتفسير: اخترع JJ THOMSON مطياف الكتلة. الذي أجرى سلسلة من التجارب في عام 1897 مصممة لدراسة طبيعة التفريغ الكهربائي في أنبوب أشعة الكاثود عالي الفراغ. وتم تعديله من قبل F.W. Aston بعد فترة وجيزة من الحرب العالمية الأولى. وقام ببناء أول مقياس طيف للكتلة يركز على السرعة والذي له قوة تحليل الكتلة 130.

9- في أي حالة يتم إجراء التحليل الطيفي الشامل للمادة؟

ا- صلب ب) السائل ج) غازي د) البلازما

الجواب: ج والتفسير: في التحليل الطيفي الكتلي للمركبات يتم أولاً عن طريق إنتاج أيونات الطور الغازي للمركب بشكل أساسي عن طريق التأين الإلكتروني. ويخضع هذا الأيونات الجزيئية للتكسير.

10- ما هي المعايير الرئيسية التي يستخدم فيها مطياف الكتلة؟

أ) التركيب في العينة ب) الكتلة النسبية للذرات ج) تركيز العناصر في العينة د) خصائص العينة

الجواب: ب والتفسير: يولد مطياف الكتلة أيونات متعددة من العينة قيد الدراسة ثم يفصل بينها وفقاً لنسبة الكتلة إلى الشحنة المحددة (m / z) أو يمكننا أن نقول عن الكتلة النسبية للذرات ثم يسجل الوفرة النسبية لـ كل نوع للأيون.

11- ما الأنواع الاتية المستخدمة للقصف بالعينة التي يتم إجراء التحليل الطيفي الشامل لها؟

أ) جسيمات ألفا ب) النيوترونات ج) الإلكترونات د) البروتونات

الجواب: ج والتفسير: في مطياف الكتلة يتم قصف العينة المراد تحليلها بالإلكترونات مما يؤدي إلى تكوين الأيونات. ويتم فرز الأيونات عن طريق تسريعها من خلال المجال الكهربائي والمغناطيسي. ويسمى سجل عدد الأنواع المختلفة من الأيونات الطيف الكتلي.

12- يتم فصل الأيونات في مطياف الكتلة على أساس أي مما يأتي؟

أ) الكتلة ب) الشحنة ج) الوزن الجزيئي د) نسبة الكتلة إلى الشحن

الجواب: د والتفسير: مطياف الكتلة يفصل الأيونات على أساس نسبة الكتلة إلى الشحن أي m / z. وفي طيف مركب نقي يظهر الأيون الجزيئي إن وجد بأعلى قيمة لـ m / z

متبوعًا بالأيونات التي تحتوي على نظائر أثقل ويعطي الكتلة الجزيئية للمركب. ومعظم الأيونات مشحونة منفردة ومن ثم فإن نسبة الكتلة إلى الشحنة تساوي الكتلة.

13- ما الأنواع الأيونية المسموح لها بالمرور عبر الشق والوصول إلى لوحة التجميع؟

أ) الأيونات السالبة لجميع الكتل ب) الأيونات الموجبة للكتلة النوعية ج) الأيونات السالبة للكتلة النوعية د) الأيونات الموجبة لجميع الكتل

الجواب: ب والتفسير: تمر الأيونات الموجبة ذات الكتلة المحددة عبر الشق وتصل إلى لوحة التجميع. ويتم قياس التيارات الأيونية باستخدام أنبوب كهربائي حساس. ويتم قياس الأيونات التي تصل إلى لوحة التجميع.

الفصل الثامن عشر
طرائق الفصل في التحليل الكيميائي

مقدمة:

لا يكون التحليل الكيميائي الآلي المستند على الخواص الفيزيائية للمواد ذا فائدة حقيقية ما لم ترجع تلك الخواص إلى المركب بشكل قاطع وعليه يجب ازالة المواد المتداخلة والشوائب من المركب المعني قبل تشخيصه ودراسة خواصه ومتابعة قياسها

توجد للفصل تقنيات كثيرة تتباين في كفاءتها أو امكانية استخدامها منها:

1. طرائق التقطير Distillation
2. طرائق الترسيب precipitation وبجميع انواعها
3. طرائق الاستخلاص Extraction
4. طرائق الكروماتوغرافيا Chromatography

ان طرائق الكروماتوغرافيا هي الاكثر فائدة بسبب كونها وسيلة تفي بالحاجة وتمتاز بالسرعة والبساطة. وان اكثر الطرق استعمالا للفصل هي طرائق الكروماتوغرافيا واجريت احصائية عام 1989 وكانت تشير إلى ان 87% من الطرائق المنشورة المستخدمة للفصل تستخدم الطرائق الكروماتوغرافية، والسبب ان هذه الطريقة تسمح للمحلل الكيميائي بتمرير العينة المذابة في الطور السائل عبر العمود المملوءة بالطور الثابت والفصل يحدث عن طريق الاف الاتزانات التي تحدث بين الطورين.

تعريف الكروماتوغرافي

نشأت فكرة التحليل الكروماتوجرافي على يد العالم الروسي ميشيل تسويت (M. Tsweet) سنة 1906م عندما حاول فصل الصبغات النباتية الملونة، ولهذا أعطاها اسم الكروماتوكرافي (كلمة chroma باللغة اللاتينية معناها لون) إلا أن هذه الطريقة تتبع الآن بنجاح في فصل جميع المواد غير الملونة من مخاليطها سواء الصلبة أو السائلة أو الغازية. حيث قام العالم تسويت بتحليل مادة الكلوروفيل وتمكن من فصلها إلى عدة قطفات ملونة من خلال استعماله لاعمدة معبأة بمادة حبيبات الكلس اذ تكونت حلقات ملونة بعدة الوان على طول العمود وعادة استخدم مذيب مناسب كعامل ناقل لهذه المركبات واطلق على هذه الحلقات الملونة بالكروماتوغرافي تم تعميم الطريقة التي تشمل الطورين الثابت والمتحرك لتشمل جميع الطرق الكروماتوغرافية حتى وان كانت لا تحلل إلى مقاطع لونية.

ويعد التحليل الكروماتوغرافي من أهم طرق الفصل الحديثة كطريقة سهلة وسريعة تحافظ على كيان المركبات المراد فصلها وتصلح لفصل مكونات أي مخلوط سواء كان في الحالة الصلبة أو السائلة أو الغازية وكان لهذا النوع من التحليل الفضل الاول في التقدم الملموس في كيمياء البروتينات والمضادات الحيوية والهرمونات والفيتامينات... الخ.

- أنواع الكروماتوغرافي Types of Chromatography

تتضمن الطرائق الكروماتوجرافية العديد من العمليات التي تعتمد على اختلاف توزيع مكونات المادة المراد فصلها بين طورين: إحداهما يظل ثابت ويسمى بالطور الثابت وهو إما أن يكون صلب أو سائل مثبت على دعامة صلبة ويوضع عادة في عمود (سحاحة مثلاً) أو يفرد على لوح من البلاستيك أو قطعة من الورق، والطور الثاني يسمى بالطور المتحرك وهو إما سائل أو غاز ويمر من خلال السطح الخارجي للطور الثابت ويسمى أحياناً بالحامل carrier لانه ينقل مكونات المادة عبر العمود.

ويمكن تقسيم الفصل الكروماتوغرافي حسب نوع القوى المسؤولة عن الفصل التي تتوقف بدورها على الدعامة أو الصنف الثابت المستخدم إلى اربعة أنواع:

- كروماتوغرافيا الامتزاز adsorption chromatography
- كروماتوغرافيا التوزيع chromatography of partition
- كروماتوغرافيا التبادل الأيوني ion exchange chromatography
- كروماتوغرافيا الاستثناء أو الاستبعاد Size exclusion chromatography (SEC)

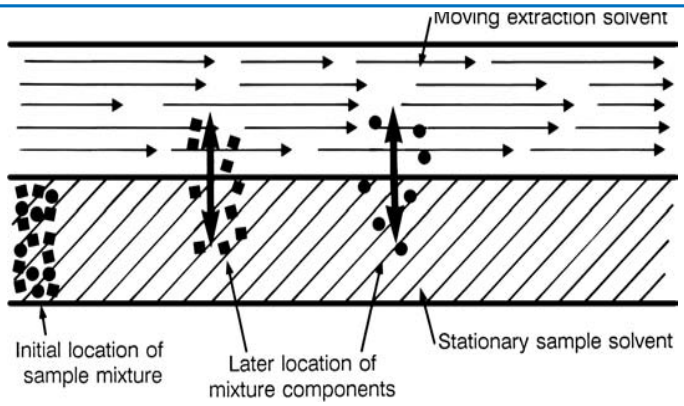
- كروماتوغرافيا الامتزاز Adsorption Chromatography

وفي هذا النوع تكون القوى المسؤولة عن فصل مكونات الخليط هي قوى الامتزاز، اذ تمتز مكونات الخليط المختلفة بدرجات متفاوتة باستخدام صنف ثابت له خاصية الامتزاز مثل كربونات الكالسيوم أو السيليكاجل(silica gel). ففي كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة تنقط عينة من الخليط على مادة السيليكاجل التي تغطي صفيحة زجاجية على شكل طبقة رقيقة، ثم يتصاعد المذيب من المستودع إلى أعلى هذه الطبقة وبعد مروره بموضع العينة فإن مكونات الخليط المختلفة تتحرك خلال طبقة السيلكاجل بمعدلات مختلفة بحيث المكونات الممتزة أكثر تتحرك أبطأ والنتيجة هي فصل النقطة الأصلية إلى مجموعة نقاط كل منها يحتوي على أحد المكونات. وبعتبر هذا النوع من أقدم الطرائق، ويتلخص مبدؤه بما يلي: عند وضع محلول بتماس جسم صلب متمزز للمنحل solute يتثبت جزء من هذا الأخير على الجسم الصلب، وذلك نتيجة لحدوث توزع partition وقيام توازن يتوقف بصورة

خاصة على شدة التمزز ومدى قابلية انحلال الجسم المنحل. ولتحقيق ذلك عملياً يصب مزيج الأجسام المراد فصلها منحلة في مذيب مناسب (الماء، الكحول) في قمة عمود شاقولي هو أنبوب مفتوح مُلئ بمسحوق جسم صلب اختياراً مناسباً (حجر كلسي، ألومين، طَلْق)، فيسيل المذيب الذي لم يتمززه الجسم الصلب إلى أسفل العمود، في حين يحتجز كل من الأجسام المنحلة على مستوى يزداد انخفاضة بنقصان شدة تمززه، وهكذا تتكون حلقات متوضعة بعضها فوق بعض. ويمكن زيادة المسافة الفاصلة بين الحلقات بإضافة سائل هو الشاطف الذي ينقل الحلقات نحو الأسفل بحلة الأجسام المتمززه. فمجموعة هذه الحلقات، التي يظهر موقعها باللون أو بأي وسيلة أخرى، تكوِّن المخطط الاستشرابي chromatogram ويمكن إجراء الفصل إذا كان التظهير development كافياً وذلك بتقطيع العمود أو بإضافة شاطف يجرف الأجسام المتمززه نحو الأسفل في العمود وباستخلاصها الواحد بعد الآخر.

– كروماتوغرافيا التوزيع chromatography of partition

تستعمل في طريقة الاستشراب هذه هلامة السيليكا silica gel التي توضع بانتظام في عمود شاقولي، فيقوم السيليكا، وهو الحامل البسيط، على تثبيت ماء الهلام، وهذا الماء يكوِّن الطور المذيب المستقر، وبعد إدخال المزيج المراد فصلة في قمة العمود يصب شيئاً فشيئاً مذيب قوامة الكلوروفورم غالباً، فيهبط المذيب في العمود من دون نقل للماء، لكنة يَنقُل نحو الأسفل بسرعات مختلفة كلاً من مكونات المزيج، ويكون أسرع المكونات هبوطاً المكوّن الذي له أعلى معامل تفريق (معامل التفريق هو نسبة كتلة المكّون المنحل في حجم من المذيب المتحرك إلى كتلة المكون المنحل في الحجم نفسة من الماء)، وعندئذ يحدث الفصل وينجز بشطف كاف. وهكذا يعد استشراب العمود column chromatography وسيلة دقيقة جداً لتحديد الهوية، وهو لا يحتاج إلا إلى ميليغرامات فقط من المادة المحللة. أما الاستشراب على الورق paper chromatography فهو إضافة إلى بساطته، أكثر دقة ويجري بوضع عدة مكروغرامات من المزيج المراد فصله في زاوية من ورقة ترشيح موضوعة شاقولياً في جو شديد الرطوبة، وتقوم ظاهرة الشعريةcapillarity بتسهيل نقل المذيب المتحرك في الورقة. وتتناسب سرعة انجراف الجسم عكساً مع انحلالة في الماء، ويتم تعرف كلٍ من البقع الحاصلة باستعمال كاشفٍ ملائم.



شكل 18- 1) يبين تحرك المكونات المختلفة بين الطور المتحرك والطور الثابت

– **كروماتوغرافيا التبادل الأيوني** Ion Exchange Chromatography

ويقصد به التحليل الكروماتوغرافي عن طريق تبادل الأيونات بين المادة المراد فصلها وبين أيونات السطح الذي يُحدث عملية التبادل وهي مادة كيميائية راتنجية ويمثل الطور الساكن والمبادلات الايونية هي مركبات لاعضوية معدنية أحياناً كالألومينات السيليكونية silico-aluminates (الزيوليت)، وعضوية في الغالب، أي راتنجات حاصلة بتفاعلات التبلمر polymerization أو التكاثف المتعدد polycondensation، ويكون بعضها كاتايون cationic مؤلفاً من نهايات كثيرة COO^- أو SO_3^{-2} مرتبطة بـ H^+، ويكون بعضها الآخر انأيوني anionic مؤلفاً من زمرة NR_3 مرتبطة بهيدروكسيد OH^- فإذا وضعت هذه الراتنجات بتماس مع محلول كانت قادرة على أن تبادل ايونات H^+ أو OH^- بايونات من الإشارة نفسها ($^+$ أو –) تأتي من المحلول. ويؤدي هذا التبادل الايوني إلى توازن مع المحلول، لذلك يمكن فصل أنواع من ايونات عدة وفق تقنية مماثلة لتقنية استشراب الامتزاز وهكذا تفصل الحوامض الأمينية الناشئة عن تحلل البروتينات الطبيعية بالماء hydrolysis على راتنج مبادل كاتأيوني cations. كما تُفصَل مشتقات الحموض النووية على راتنج مبادل انأيوني anions.

– **الكروماتوجرافيا الاستثناء أو الاستبعاد (Size exclusion chromatography (SEC**

في هذه الطريقة يعبأ العمود بمادة هلامية يحتوي جزئيها الكبير جداً على تركيب يشبه المنخل وخاصة بعد تنقيها في الماء، وعند إمرار المواد المراد فصلها خلال المادة الهلامية فانه يتم فصلها بناء على حجم جزئياتها بطريقة تشبه عمل المنخل تماماً ويكون على

نوعين gel filtration chromatography و gel permeation chromatography. الطور الثابت عبارة عن بوليمر يحتوي على ثقوب pores فالجزيء الاكبر من النموذج لا يدخل داخل الثقوب وانما يمر مع الطور الحامل وبالاتي يكون أول شيء يخرج من العمود. الجزيء الصغير في النموذج يدخل داخل الثقب ويبقى وقت من معين ثم يخرج ويواجه ثقب اخر من البوليمر ويدخل فيه وهكذا إلى ان يخرج من العمود. الجزيء المتوسط يبقى وقت متوسط لا انه لا يصل إلى قاع الثقب.

اهمية الكروماتوغرافي:

1. تستخدم كطريقة تحليلية لتعيين المركبات الداخلة في تركيب مزيج ما من الناحية الكمية والنوعية حيث تتطلب الحاجة إلى تحليل نماذج معقدة جدا قد تتكون من خمس مواد أو اكثر لا يمكن تحليلها بالطرق الاعتيادية اذ نقوم كخطوة أولى لازالة المواد المتداخلة interferences أو فصلها اي نجعل هذه التداخلات غير ضارة من خلال ضبط pH أو اضافة عامل تعقيد أو تغيير الحالة التاكسدية.

2. استخدامات تحضيرية: تحضير مواد معينة بنقاوة عالية.

3. تستخدم هذه الطرق ايضا للحصول على بعض الخواص الفيزيائية والكيميائية أو لدراسة التفاعلات الكيميائية أو تعيين سرعة التفاعلات.

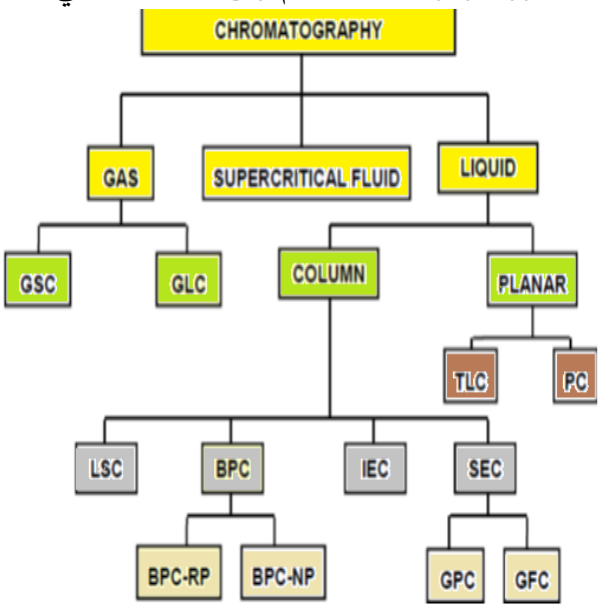
4. زيادة الحاجة لمواد موجودة بكميات ضئيلة trace amounts مما يستدعي طرق فصل وتحليل دقيق trace analysis أو وجود عينات بكميات ضئيلة لنماذج نادرة.

وتقسم الطرق حسب نوع الطور الناقل mobile phase إلى:-

جدول (18-1) تقسيم طرق الكروماتوغرافيا حسب الطور الناقل

MOBILE PHASE	STATIONARY PHASE
GAS Gas Chromatography (GC)	LIQUID Gas-Liquid Chromatography (GLC)
	SOLID Gas-Solid Chromatography (GSC)
LIQUID Liquid Chromatography (LC)	LIQUID Liquid-Liquid Chromatography (LLC)
	SOLID Liquid-Solid Chromatography (LSC)

كذلك يمكن تصنيف الكروماتوغرافيا بشكل عام وفق المخطط الاتي:



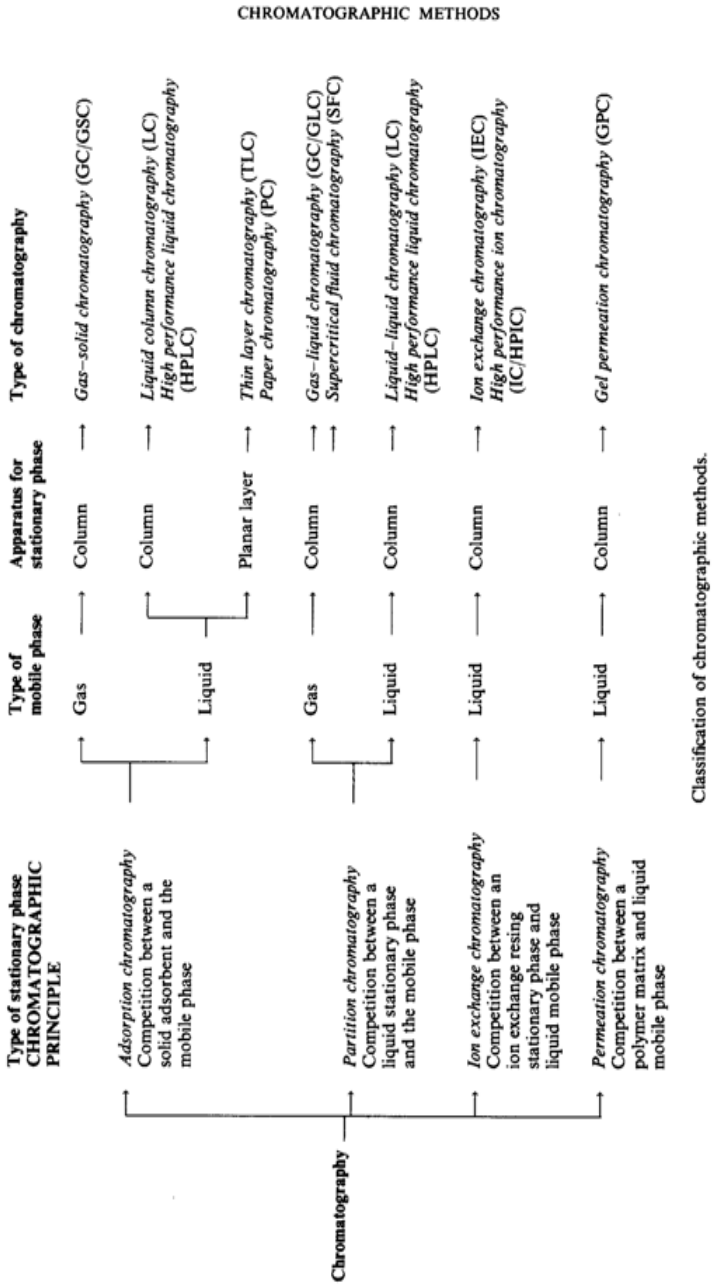
شكل (18- 2) مخطط عام لانواع الطرق الكروماتوكرافية

أو تصنف طرق الكروماتوغرافيا بشكل عام اعتماداً على الطور الثابت والمتحرك جدول(18-2)

جدول (17 – 2)

Classification	Specific method	Stationary phase	Mobile phase	Type of equilibrium
Liquid Chromato graphy (LC)	*Liquid- liquid LLC	Liquid adsorption	Liquid	Partition between 2 immiscible liquid
	*liquid- solid LSC	On solid Solid	Liquid	Adsorption
	*Liquid bonded Phase on LBC	Organic Species Bonded to	Liquid	Partion/adsorption
	*ion exchanger IEC	solid surface Ion exchanger	Liquid	Ion exchange
	Gel permeation GBC	resin Polymeric	Liquid	Partition/sieving
Gas Chromato graphy (GC)	*Gas- liquid GLC	Liquid adsorbed on	Gas	Partition
	*Gas –solid	solid Solid	Gas	Adsorption
	*Gas bonded phase chr.	Organic Species Bonded to a solid surface	Gas	Partition/ Adsorption

ويمكن توضيح الطرق الكرومتوكرافية الاربعة السابق ذكرها حسب نوع تقنية الطور المتحرك والطور الثابت كما مبين في الشكل(17–3).

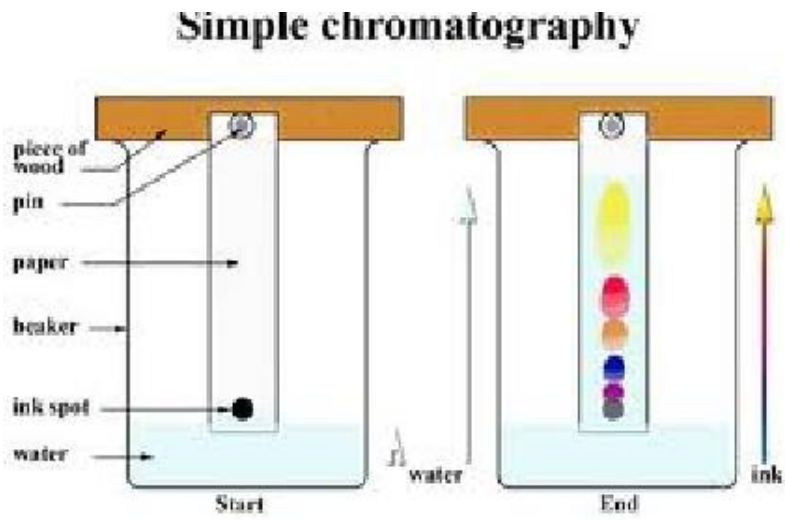


شكل (18- 3) تصنيف الطرق الكروماتوغرافية

ترتيب الطرق الكروماتوغرافية Chromatography Configurations

كروماتوغرافيا الورق Paper chromatography

وهو مجال خاص من كروماتوغرافيا سائل والذي يكون فيه الطور الثابت عبارة عن غشاء رقيق من ممتز على حصيرة ورقية ويكون الرطوبة الموجودة بين جزيات السيللوز وليست الورقة كذلك يمكن استخدام سوائل ثابتة اخرى وهذه التقنية هي غاية في البساطة كل ما يحتاجه الشخص للعمل هو ان يضع بقعة من العينة على حافة قطعة من الورق ويغمس حافة الورق في مذيب التصفية التتابعية. تكون هذه التقنية ملائمة على وجة الخصوص لفصل المكونات الضئيلة وتشخيصها باستخدام كواشف تظهير حساسة.



شكل (18-4) كروماتوغرافيا الورق

- العوامل المؤثرة على الفصل:-

اولا: القوى الدافعة: وهي تعمل على تحريك المركبات في مكان البداية ونتقلها في إتجاه سريان المذيب وتوجد قوتين دافعتين أساسيتين هما:

1) سريان المذيب

2) الذوبانية: ذوبان المادة في المذيب

ثانيا: القوى المانعة: وهي تعمل على إعاقة تحريك المواد وتمنع انتقالها مع ســـريان المذيب وتوجد قوتان مانعتين أساسيتين وهما:

1) الامتزاز

2) التوزيع

طريقة الفصل والتحليل

في هذا النوع يستعمل شريط من الورق الخاص مشبع بمذيب مناسب وهو يمثل الطور الثابت أما الطور المتحرك فهو عبارة عن مذيب مناسب.

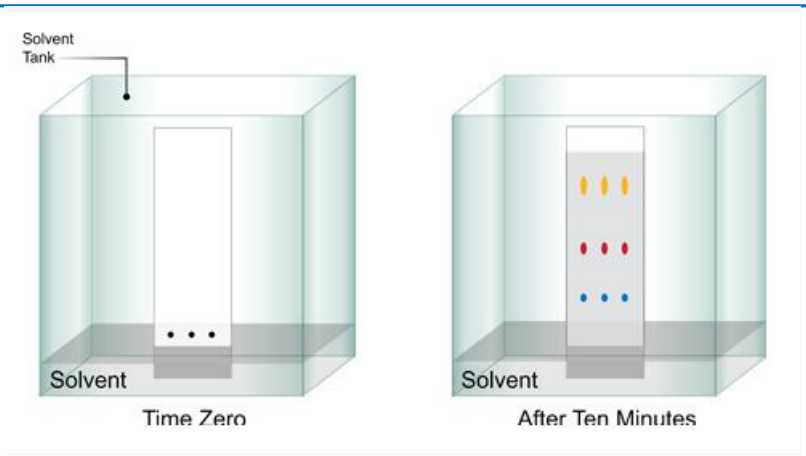
ولإجراء كروماتوجرافيا الورق يؤخذ شريط ورقى من نوع خاص واتمان على أبعاد قياسية 20 ملم× 50 سم أو 30 ملم × 50 سم وعلى بعد 5 سم من نهاية الشريط يوضع خط مستقيم بالرصاص هذا الخط يوضح مكان وضع العينة المراد تحليلها ويسمى بنقطة البداية Start Point وقبل نهاية الشريط بحوالى 2 سم يؤخذ خط ويسمى بنقطة النهاية Front Point تنقل كمية معلومة من العينة المراد تحليلها بواسطة أنبوبة شعرية دقيقة معلومة الحجم وتوضع على نقطة البداية على هيئة نقطة لا يزيد قطرها عن 0.5 سم وذلك بملامسة حافة الأنبوبة للورقة عدة لمسات يتخللها التجفيف وتسمى بعملية التنقيط Spottins ومكان الـــ Spot يسمى orgin يحمل الشريط الورقى ويوضع في غرفة زجاجية معلق بأعلاها حوض زجاجى يوضع به المذيب العضوى المناسب ويغمس طرف الشريط في المذيب بحيث تبعد عن مستوى الـــ Spot تحت سطح المذيب الذى يحتوى على مخلوط من المركبات يترك الشريط في الغرفة الزجاجية اذ يتشرب الورق بالمذيب حتى يصل مستوى المذيب إلى خط النهاية، ويترك خارج الغرفة حتى يجفف.

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة thin layer chromatography

تستخدم في عمليات الفصل السريع وفي تحليل الكميات القليلة من المواد ويعود ذلك للاسباب الاتي:

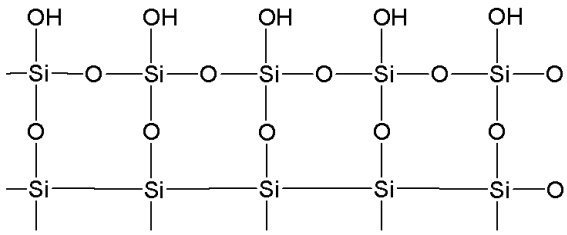
1. بساطة الطريقة وعدم الحاجة إلى اجهزة معقدة.
2. إمكانية الوصول إلى جودة الفصل نفسها التي تعطيها الطرق الكروماتوغرافية الاخرى
3. إمكانية الوصول إلى فصل انتقائي باستخدام كواشف خاصة.

وتتم عملية الفصل على طبقة رقيقة من مادة الوسط الثابت المفروشة على الواح مصنوعة من الزجاج أو البلاستيك أو الالمنيوم لانه يحتوي مزدوجات الكترونية فيحصل نوع من التجاذب.



شكل (18- 5) كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

ويعتمد الفصل في هذه الطرق اما على ظاهرة الامتزاز أو ظاهرة الاستبدال الايوني وهذه الظاهر تعتمد على تركيب كل طبقة من الوسط الثابت والوسط المتحرك. الا ان تطبيقاتها المعتمدة على ظاهرة الامتزاز هي الشائعة،اذ ينظر إلى كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على انها كروماتوغرافيا امتزاز. ويتم العمل بهذه التقنية بغمر الجزء الاسفل من الشريحة بمذيب مناسب اعتمادا على النموذج ويترك لمدة معينة من الزمن، اذ يسلك المذيب والشريحة سلوك الخاصية الشعرية مرتفعا إلى الاعلى حاملا معة النموذج وتبعا لحالة مكونات النموذج من حيث حجم الجزيئات أو قطبيتها تتوزع على الطبقة الرقيقة بحسب قدرة المذيب وامكانية حملة مكوناتها.



شكل (17- 6) بوليمر السليكا

<u>القوى التي تؤثر على توزيع المواد داخل العمود</u>

يمكن ان نلخص القوى التي تؤثر في المادة بين الطورين المتحرك mobile phase والثابت stationary كما يلي:-

1. التشتيت Dispersion interaction: التوزيع الاني للشحنة، اذ كل جزيء يؤثر على الجزيء الذي يكون بجنبة فمثلا مركب CCl_4 فهو مركب ذو جزيئات متعادلة neutral molecules غير قطبي فيحصل به تشتت فاذا لم يحصل فيه مثل هذه الصفة فيتحول إلى غاز.

2. Dipole– dipole interaction: حصول تجاذب بين مكونات العينة والطور الثابت نتيجة القطبية وهذه القوى يمكن ان تكون قوى فاندرفال van der Waals.

3. Hydrogen bond interaction: عامل اخر مؤثر على مكونات العينة هوتاثير الاصرة الهيدروجينية بين مكونات العينة والطور الثابت أو الطور الحامل.

هذه العوامل تقود إلى بطيء عمليات التوازن أو حصول تذييل في الذروات الناتجة من التحليل وخاصة في GC وHPLC. مع وجود كل هذه المؤثرات فان عملية الفصل تحدث حسب قانون كولوم coulomb's law الشيء ينجذب إلى شبيهه (like attractive like) اي المادة المذابة القطبية تنجذب نحو الطور الثابت القطبي والعكس يصح كذلك، ويمكن ملاحظة بعض الجزيئات تملك طرفا قطبي والاخر غير قطبي مثل n- butanol ($CH_3CH_2CH_2CH_2OH$).

السلوك الكروماتوغرافي للمادة المذابة chromatography behavior of solute analytic)

عملية توزيع مكون من المكونات بين طورين، هي عملية ديناميكية فكل جزيئة من جزيئات المكون تمر عادة بسرعة إلى الخلف والى الامام بين الطورين وهذا الانتقال يصل بسرعة إلى حالة التوازن وتحصل حالة التوازن عند تساوي الطاقة الحرة لجزيئات المكون في الطورين:

$$\bar{A} \leftrightarrow A$$

علامة الخط فوق الحرف تدل على ان $\bar{A}$ في الطور الساكن وبدون الخط فان A في الطور المتحرك. ومعدل التركيز في كل من الطورين عند نشوء حالة التوازن هو كمية ثابتة تخضع لقانون التوزيع لنرنست Nernst :

$$K_d = \frac{C_S}{C_m}$$

اذ K_d هو معامل التوزيع Distribution or partition coefficient وC_S وC_M هي تراكيز المكون في الطورين الساكن والمتحرك على التوالي.

اذا كان K_d كبير جدا فان المكون تبقى في الطور الثابت لفترة اطول وتتحرك ببطء شديد وقد تتشبث لاطول فترة ممكنة وجزيئات أو دقائق المكون ستقضي في المعدل وقتا اطول في ذلك الطور، اما اذا كان K_d صغير فان المكون يكون اكثر في الطور المتحرك وسرعته نفس سرعة الطور المتحرك اي لا يحصل تفاعل بين بين النموذج وكلا الطورين.

ان ميكانيكية حالة التوازن هذه تعتمد على طبيعة الاطوار ونوع التأثيرات المتبادلة بين المكون، وكل طور من الاطوار، فهي قد تكون تبادلاً ايونياً أو ذوباناً (توزيع ومعامل التوزيع) أو قد تكون امتزاز من قبل طور ساكن فعال (كروماتوغرافيا الامتزاز). ويعين جزء أو كسر الوقت المصروف في كل طور من الاطوار من حساب نسبة عدد جزيئات المكون في ذلك الطور إلى عدد جزيئات المكون الكلية في الطورين كما في المعادلة الاتية:

$$R_1 = \frac{\text{عدد جزيئات المكون في الطور رقم } 2}{\text{عدد جزيئات المكون في الطور رقم } 2 + \text{عدد جزيئات في رقم } 1}$$

$$R_1 = \frac{M_{1,2}}{M_{1,2} + M_{1,1}}$$

فاذا تم اعتبار الطور رقم 1 هو الطور الساكن والطور رقم 2 هو الطور المتحرك فالمعادلة السابقة ستصبح كما يلي:-

$$R = \frac{M_M}{M_M + M_S}$$

اذ R هو عامل الاعاقة النسبي، M_M هي كتلة المكون رقم 1 في الطور المتحرك وتساوي تركيزة في الطور المتحرك مضروبا في حجم الطور المتحرك اي:

$$M_M = V_M \times C_M$$

كذلك فان M_S هي كتلة المكون في الطور الساكن وتساوي:

$$M_S = V_S \times C_S$$

وعلى هذا فان:

$$R = \frac{C_M \times V_M}{C_S V_S + C_M V_M}$$

وبقسمة البسط والمقام للطرف الايسر لهذه المعادلة على الكمية $C_M\ V_M$ ينتج:

$$R = \frac{1}{1 + \frac{C_S V_S}{C_M V_M}}$$

وبما ان $K_d = \frac{C_S}{C_M}$:

$$\therefore R = \frac{1}{1 + K_d \times \frac{V_S}{V_M}}$$

R يسمى عامل الاعاقة أو الاستبقاء Retardation Factor، أو:

$$-R = \frac{V_M}{V_M + K_d V_S}$$

كما ان:

$$\frac{R}{1-R} = \frac{C_M V_M}{C_S V_S}$$

اذ ان $\frac{R}{1-R}$ يمثل جزء المذاب في الطور المتحرك مقسوماً على الجزء في الطور الساكن اي ان عامل الاعاقة R هو دالة لمعامل التوزيع وحجم كل من الطورين.

فاذا كانت سرعة الطور المتحرك = F

فان معدل سرعة انتقال المكون = $F[\frac{1}{1+K_d\frac{V_S}{V_M}}]$

وبما ان سرعة الطور المتحرك F هي ثابت، وان نسبة حجم الطور الساكن إلى حجم الطور المتحرك $\frac{V_S}{V_M}$ هي ثابتة ايضاً. اذ ان المتغير الوحيد والذي يقرر انتقال مكون من المكونات هو معامل التوزيع K_d. فاذا كان K_d للمكون A مثلا يختلف عن K_d للمكون B فانهما سينتقلان بسرعة مختلفة.

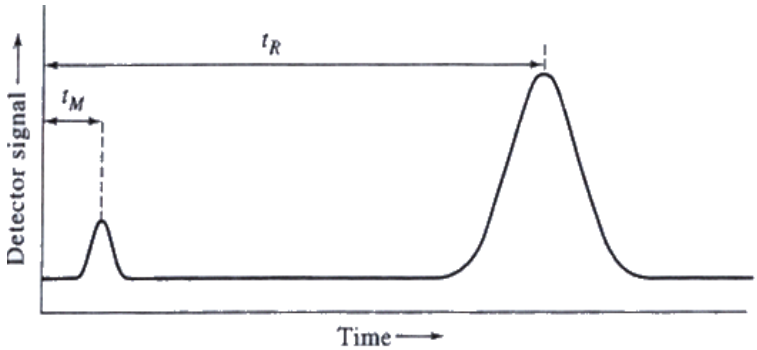
والاكثر مكوثا على العمود – احتجازاً – هو الذي يملك K_d اعلى. ان هذا الاختلاف في زمن الاحتجاز يؤدي إلى ان احد المكونين سيخرج من العمود، بينما يبقى الاخر داخل العمود. وبتعبير ادق سوف يؤدي إلى خروج متتابع للمكونات المفصوله الواحد عن الاخر حسب معامل توزيع كا منها. فالمكون الذي له معامل توزيع اصغر هو الذي يخرج اولا من العمود. وعلى هذا فان R تمثل في الواقع نسبة الاستبقاء Retention Ratio اي نسبة الفترة الزمنية التي يقضيها المكون A مثلا في الطور المتحرك إلى الفترة الزمنية الكلية التي يقضيها داخل العمود اي ان:

$$R = \frac{t_m}{t_m + t_s}$$

اذن يجب ان تكون للمكون دائما وقت بقاء معين داخل العمود هذا الوقت يسمى وقت الاحتجاز أو وقت الاسترجاع Retention Time والذي هو من المقاييس الأساسية في التشخيص النوعي خاصة في كروماتوغرافيا الغاز أو هو الفترة الزمنية منذ حقن المادة في

الجهاز وحتى وصولها إلى المجس (الكشاف) وزمن الاحتجاز يعتمد على عدة عوامل منها:-

1. معدل جريان الطور المتحرك.
2. نوع الطور الثابت.
3. التداخلات بين الطور الثابت والمادة المراد فصلها.
4. درجة حرارة العمود.
5. طول العمود.
6. نوع الطور المتحرك.



شكل (18- 8) زمن الاحتجاز

وزمن الاحتجاز هومن المتغيرات تقديرها ومعرفة كميتها بسهولة، وهي الفترة التي يمكث فيها مكون من المكونات داخل العمود خلال عملية الفصل أو بتعبير آخر فهي الفترة الزمنية التي يحتجز فيها النمون من قبل الطور الساكن زائدا الفترة الزمنية التي يحتاجها الطور المتحرك للمرور خلال العمود بدون اعاقة وتسمى هذه الفترة بالزمن الميت Dead time (t_m) كما موضحة بالشكل.

اما حجم الطور المتحرك اللازم لاخراج المكون من الطور الساكن وتدفقه خارج العمود فيسمى بحجم الاحتجاز Retention Volume ويرمز له (V_R) فاذا كانت سرعة الطور المتحرك تساوي F فان:

حجم الاحتجاز = سرعة الطور المتحرك × زمن الاحتجاز

اي ان:

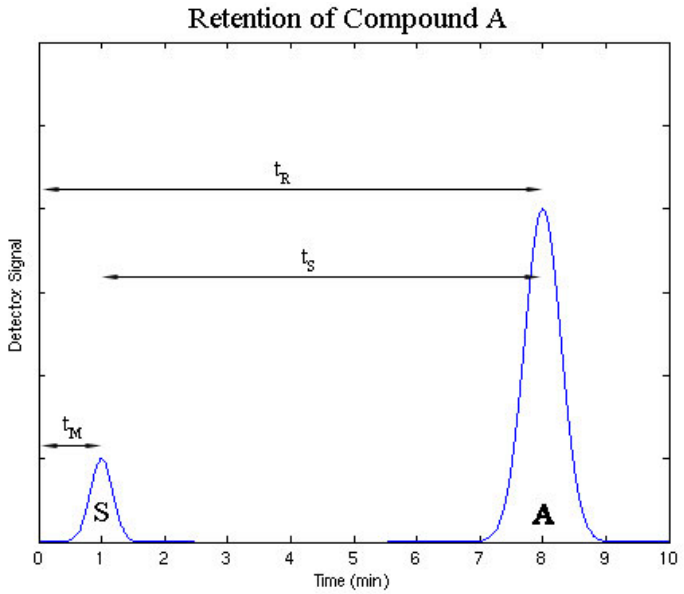
$$V_R = F \times t_R$$

ووحدات حجم الاحتجاز هي وحدات الحجم بوحدات الزمن (مللتر في الدقيقة الواحدة مثلا).

اما الحجم الميت V_m (Void or Dead Volume) فهو حجم الفراغات بين جسيمات أو

دقائق الطور الساكن ويعطى الرمز V_0 والمعادلة الاتي: توضح علاقة الحجم الميت بالزمن الميت:

$$V_0 = F \times t_m$$



شكل (18- 9) زمن احتجاز المكون A

اذ ان:-

t_s = هي فترة احتجاز المكون من قبل الطور الساكن

t_m= الزمن الميت أو الزمن الذي يحتاجة الطور المتحرك للمرور خلال العمود

t_R = زمن الاحتجاز الكلي Retention Time

واحيانا تحسب قيمة الحجم الميت V_m أو V_0 من طرح قيمة حجم الطور الساكن من قيمة حجم العمود الكلية:

وحجم العمود = ارتفاع الاعمود × مساحة مقطعة

اذن حجم العمود = A × d

حيث A مساحة مقطع العمود = مربع نصف القطر × النسبة الثابتة

معامل السعة Capacity Factor

ان الحد $K_d = \frac{V_s}{V_m}$ يمثل ما يسمى معامل السعة $\overline{K}$ ويمكن ايجاد علاقة معامل السعة بمعامل التوزيع في المعادلة الاتي والناتجة من عدد الاشتقاقات :

$$K_d = \overline{K} \times \frac{V_M}{V_S}$$

وعند تساوي حجم الطورين فان معامل السعة هو معامل التوزيع.

واذا اخذنا بالحسبان طول العمود يكون زمن الاحتجاز كما موضح بالمعادلة الاتية:

$$t_R = \frac{L}{\mu_A}$$

اذ ان:

L = طول العمود Length of Column

u_A = سرعة العينة Velocity of analyte

واذا اردنا في المعادلة التي تربط معامل السعة بمعامل التوزيع نحصل على العلاقات الاتية:

$$t_R = \frac{L(1-\overline{K})}{\mu}$$

$$\overline{K} = K_d \frac{V_S}{V_m}$$

$$\mu_A = \mu(\frac{1}{1+\overline{K}})$$

لكل مكون يوجد t_R معين عند ثبات الظروف. في بداية التحليل يتحسس الكاشف بالهواء اي الوقت اللازم لاخراج الهواء من العمود اولاً يسمى بالوقت الميت أو الوقت الضائع وهي قيمة ثابتة لكل عمود (t_0، t_m)، عليه يكون:

$$t_m = \frac{\mu}{L}$$

$$t_R = t_0(1+\overline{K})$$

$$t_R = t_0 + t_0\overline{K}$$

$$\overline{K} = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

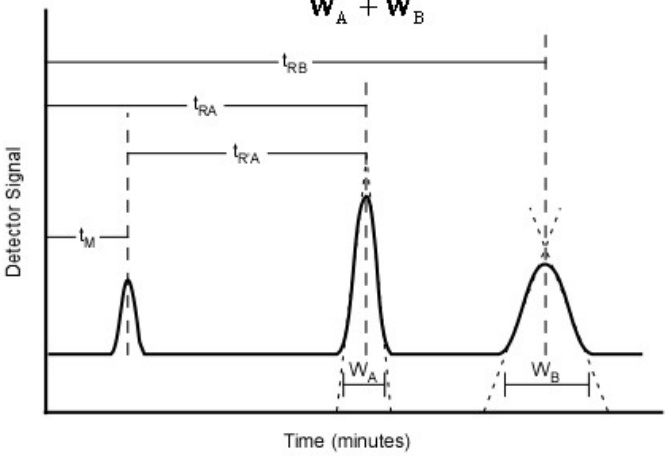
ومن المعادلات السابقة نستنتج الحقائق الاتية:

اذا كانت K_d لمكونين متساوية لا يحصل فصل واما اذا كانتا مختلفتين فنتوقع حصول فصل واذا عبرنا بالقيمة α الفا بمعامل الفصل (separation Factor or Selectivity Factor) والتي ناتج قسمة معاملي التوزيع للمادتين اي ان:

$$\alpha = \frac{(K_d)_B}{(K_A)_A}$$

فاذا كانت α تساوي 1 اي ان معاملا التوزيع متساويين لا يحصل فصل الا اذا كانت اكبر من 1 فتظهر لنا ذروتان تمثلان المكونان A & B.

$$R_S = \frac{2(t_{R'B} - t_{R'A})}{W_A + W_B}$$



شكل (18- 10) كروماتوكرام للمادتين A & B

ويمكن جمع القيم الاساسية في معادلة واحدة بعد تطوير العلاقات السابقة:

$$(t_R)_B = 16RS_2 \cdot H/\mu \ (\alpha/\alpha - 1)^2(1+k^-_B/k^-_B)^3$$

القيم الاساسية في هذه المعادلة هي H,N,k^-,α ويمكن التحكم في كل واحد على حدة.

كفاءة العمود في الفصل الكروماتوغرافي Efficiency of chromatography separation:

هنالك نظريتان تناولت تفسير اهم العوامل التي تزيد من كفاءة الفصل التحليلي وهي:

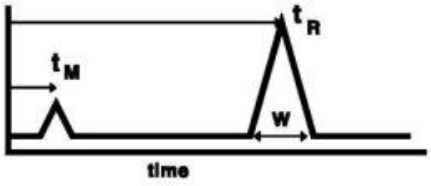
1- **نظرية الصفائح Plate Theory**

2- **نظرية السرعة Rate Theory**

نظرية الصفائح plate theory

تنص النظرية على ان العمود الكروموتوغرافي يتضمن عدداً كبيراً من القطع المتشابهة أو الصفائح النظرية وفي كل منهما يتم التوازن. ان معادلة عدد الصفائح النظرية افترضت ان العملي الكروموتوغرافية هي عملية مستمرة وليس عمليات متقطعة.

وكلما زادت عدد الصفائح النظرية كانت الذروات اضيق وقريبة للوصول إلى السلوك المثالي وقد استطاع العالم مارتن بوضع معادلات رياضية يتم بموجبها حسبان عدد الصفائح النظرية موضحا ان العمود الكروماتوغرافي يشبه ابراج التقطير المؤلفة من عدد من الصواني أو الصفائح بشكل نظرية لتشابه المهام العملية لاعمدة الفصل وابراج التقطير وان عدد الصفائح النظرية ذات اهمية كبيرة في كفاءة الفصل فكلما كان عددها اكبر كان الفصل بين المكونات واضح وهناك فاصل زمني بين ذروة واخرى.



No. Theoretical Plates, N

$$N = 16[t_R/W]^2$$

t_R = retention time, analyte t_M = retention time, non-retained component

شكل (18- 11) كروماتوكرام حساب عدد الصفائح النظرية

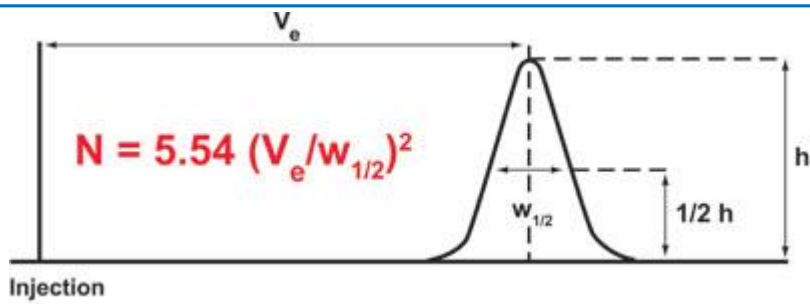
كما يظهر بالشكل الكروماتوغرافي بان عدد الصفائح النظرية في عمود كروماتوغرافي معبأ تكون:

$$N = 16(\frac{t_R}{w})^2$$

اذ تمثل N عدد الصفائح النظرية بينما تمثل w عرض الذروة عند خط القاعدة. ولذلك تعتمد هذه المعادلة في تحديد طول العمود المناسب للحصول على فصل جيد وزمن تحليل مناسب.

في بعض الاحيان يعتمد في حساب عدد الصفائح النظرية على عرض الذروة عند منتصف ارتفاعها عندما قاعدة الذروة ذات ذيل وتسبب بعض الاخطاء في الحساب فتصبح المعادلة:

$$N = 5.54(\frac{t_R}{0.5\,w})^2$$



شكل (18- 12) كروماتوكرام احتساب عدد الصفائح النظرية

ويمكن تحديد كفاءة العمود من خلال قسمة طول العمود على عدد الصفائح النظرية فكلما كان ناتج القسمة قليل كلما كانت كفاءة الفصل افضل.

$$HETP = \frac{L}{N}$$

اذ تمثل L طول العمود وN عدد الصفائح النظرية HETP= High equivalent theoretical plates.

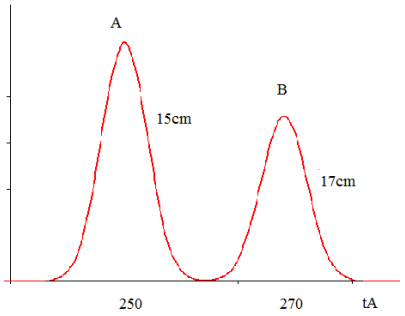
- وهنالك طريقتان لزيادة عدد الصفائح النظرية

1- زيادة طول العمود: اذ ان كل صفيحة تشغل الحيز نفسه من العمود وبالتالي فان زيادة طول العمود يعني زيادة عدد الصفائح النظرية لانها تتناسب تناسباً طردياً مع طول العمود

2- زيادة عدد الصفائح النظرية في وحدة واحدة من طول العمود.

اذ ان زيادة عدد الصفائح النظرية يعني زيادة التوازنات وبالاتي الوصول إلى السلوك المثالي. وان كفاءة العمود والظروف المثالية في الفصل الكروماتوغرافي تتمثل بما يلي:

1. تكون الذروات peaks ذات قمم حادة.
2. متماثلة اي تشبة مثلث متساوي الساقين.
3. تلامس خط القاعدة وهناك فاصلة زمنية بين الذروة والتي تليها.
4. يفضل ان تكون عديمة الذيل tail.
5. عدم اندماج عدة مكونات في ذروة واحدة اي عدم حصول تداخل.



شكل (18-13) ال بين الذروتين

مثال: مخطط كروماتوكرام لمكونين A&B وقت الاسترجاع للاول 250 دقيقة والثاني 270 دقيقة وعرض القمة الاولى 15 سم والثانية 17 سم. احسب عدد الصفائح النظرية لعمود الفصل. واذا كان طول العمود 120 سم احسب HETP.

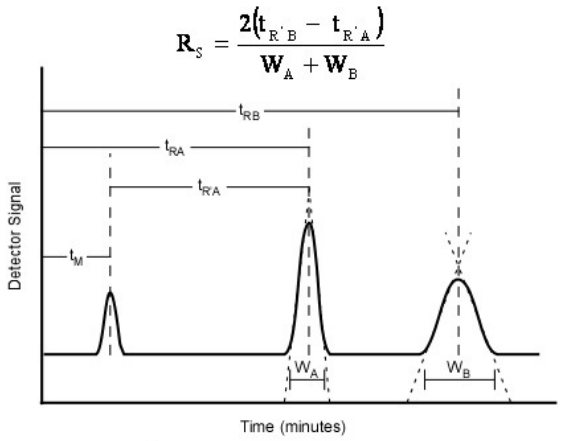
$$\text{N for A} = (\frac{4t_R}{w})^2 = (\frac{4 \times 250}{15})^2 = 4.44 \times 10^3$$

$$\text{N for B} = (\frac{4 \times t_R}{w})^2 = (\frac{4 \times 270}{17})^2 = 4.04 \times 10^3$$

$$\text{HETP} = H = \frac{L}{N} = \frac{120}{4.2 \times 10^3} = 0.023$$

درجة الفصل أو التفريقية Resolution (R)

هذا المصطلح يعني الفصل الكروماتوغرافي باستخدام الاعمدة ومدى كفاءة العمود في فصل مكونات النموذج بشكل ذروات واضحة منفصلة عن بعضها البعض بفاصلة زمنية مناسبة يضاف شكل الذروة وتجانسها ويمكن احتساب التفريق Resolution اعتمادا على عرض الحزمة وعدد الصفائح النظرية وزمن الاحتجاز ويرمز للتفريق بـ R وتعتمد المعادلة الاتي في تقدير التفريق بعد اجراء فصل كروماتوغرافي لنموذج مكون من مادتين

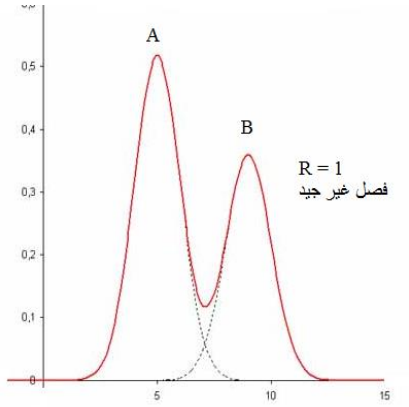


شكل (18-14) حساب التفريقية

$$R = \frac{t_{R(B)} - t_{R(A)}}{\frac{WA+WB}{2}}$$

$$R = \frac{2\Delta t_R^2}{WA-WB}$$

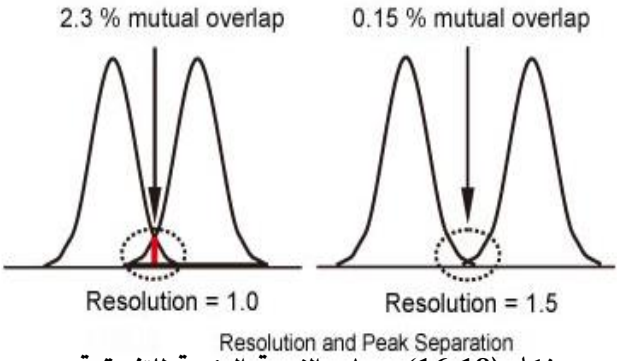
If WA=WB $\approx \Delta t_R \rightarrow R = 1$



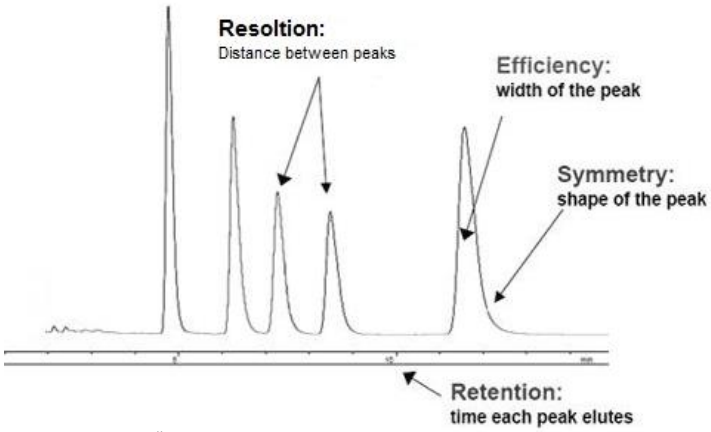
شكل (18-15) تداخل الحزم الكروماتوغرافية (فصل غير جيد)

يحصل تطابق ويبقى الاعتماد على الفرق بين ازمان الاحتجاز لكلا المادتين اي عندما يكون R=1 يحصل تطابق أو تداخل over lapping اي ان الفصل غير جيد اي هناك تقريب 3% من الـ overlapping ناتج عن حصول تداخل 3% من A مع B و3% من B مع A وهذا الفصل غير جيد وبعبارة اخرى العمود غير مناسب وان افضل قيمة لـ R نحاول الوصول اليها هي R = 0.5 للحصول على فصل جيد. كما ان تماثل القمة عامل

مهم في التفرقية فعدم التماثل يؤدي إلى حصول ذيول تؤثر على حدة الفصل وتقلل من كفائته.

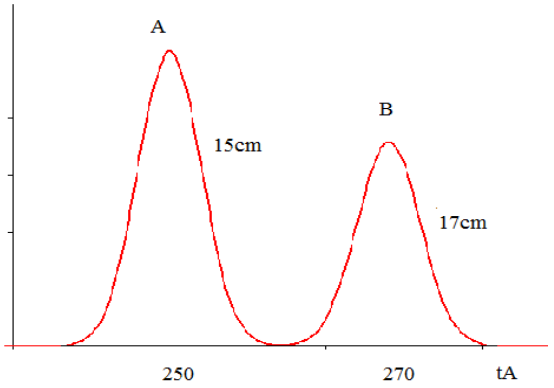


شكل (18-16) حساب النسبة المئوية للتفريقية



شكل (18 – 17) تماثل الحزم الكروماتوغرافية

ولو عدنا إلى المثال السابق ونحسب Resolution للذروتين A&B عندما يكون طول العمود 120سم وكذلك عند تغيير طول العمود إلى 200سم ونعيد احتساب R ونجري تقييم لعملية الفصل الكروماتوغرافي بموجب المعطيات الجديدة لـ R.



شكل (18 – 18) مثال لحساب التفريقية

$$R = \frac{2\Delta t_R}{WA + WB}$$

$$R = \frac{2(270 - 250)}{15 + 17} = 1.23$$

هنا R اكبر من 1 وهذا غير مفصل ويعني ان الفصل غير جيد لحصول تداخل تقريبا 2% من A في B و2% من B في A وفي تغيير طول العمود إلى 200 سم نلاحظ التغييرات الحاصلة بعد تطبيق المعادلات:

$$t_R = \frac{L}{\mu_A} \rightarrow 250 = \frac{120}{\mu_A} \rightarrow \mu_{A1} = 0.48$$

$$t_R = \frac{L}{\mu_A} \rightarrow 270 = \frac{120}{\mu_A} \rightarrow \mu_{A2} = 0.44$$

$$t_{R1} = \frac{200}{0.48} = 416.6\ minutes$$

$$t_{R2} = \frac{200}{0.44} = 454.5\ minutes$$

$$R = \frac{2\Delta t_R}{WA + WB} = \frac{2(454.5 - 416.6)}{15 + 17} = 2.36$$

طرق تحسين التفريقية (عزل القمم) Resolution (R)

ان عدد الصفائح النظرية هي دالة لكيفية بناء العمود كما انها دالة لمتغيرات عديدة اخرى منها طبيعة المادة المذابة ومعدل سرعة الجريان للطور المتحرك ودرجة الحرارة وطريقة ادخال النموذج وغيرها. لذلك لا يمكن حساب عدد الصفائح بدقة وبصورة عامة كلما كانت

N كبيرة كانت الذروات اضيق وزاد الاقتراب من السلوك المثالي ومن الممكن زيادة عدد الصفائح النظرية N وتحسين التفريقية Resolution اتباع ما يلي:-

1. زيادة طول العمود L: اذا اعتبرنا ان ارتفاع كل صفيحة في العمود مساوياً لارتفاع الصفائح الاخرى فأن زيادة طول العمود سيؤدي إلى زيادة عدد الصفائح وذلك لان L=HN الا ان هذه الزيادة في الطول ستؤدي إلى مضاعفة زمن الاسترجاع t_R للمكون وبما ان العلاقة بين عدد الصفائح وزمن الاسترجاع تربيعية كما في المعادلة:

$$N = 16(\frac{t_R}{w})^2$$

فسيكون المردود الواقعي للفصل هو دالة جذر تربيعي لطول العمود تقريبا. واضافة لذلك فان عرض الحزم يزداد كلما ازداد طول العمود.

2. ولهذا السبب فأن افضل طريقة لزيادة كفاءة العمود هوارتفاع الصفيحة الواحدة H اذ ان H= L/N ويتم زيادة عدد الصفائح النظرية بزيادة عدد التوازنات ضمن نفس الامتداد الزمني.

العوامل التي تؤثر على عرض الحزمة Band Broadening

هي الزيادة في عرض الحزمة ومن المفترض ان بداية الحزمة ونهايتها يكون التركيز للمادة متساويا واذا كان التعبئة packing للعمود جيدا يكونان متماثلان 100% وفي الوسط يكون التركيز اعلى ما يمكن لذلك نحصل على شكل ذروة peak حاد sharp. كلما تاخر المادة من العمود كلما كانت peak اعرض واقصر لان اثناء مرور المادة على العمود سيحصل spreading للمادة عن طريق diffusion للاعلى والاسفل واذا خرجت المادة بسرعة تكون peak رفيعة وطويلة. ومن العوامل التي تؤثر على عرض الحزمة :-

1. حجم الدقائق المكونة للسطح الساند particle size of stationary phase اي كلما كان حجم حجم الحبيبات للطور الساكن صغير كلما ازدادت المساحة السطحية وبالاتي تزداد التوازنات تصاحبها ازدياد في عمليات الامتزاز وتماس افضل بين الطورين المتحرك والثابت.

2. سمك الطبقة thickness of immobilized film عند تحضير حشوة العمود من سائل صلب نعمل على تغليف الدقائق بطبقة رقيقة من مادة سائلة كأن تكون زيت السيليكون أو صمغة أو الشحوم كالكريز grease مثلا فكلما كان السمك رقيق حصلت توازنات اكثر ويكون الفصل افضل.

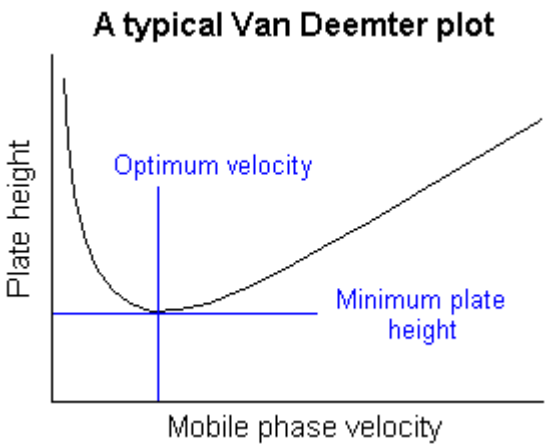
3. اللزوجة viscosity يظهر تأثير اللزوجة بشكل واضح في كروماتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي HPLC اذ ان لزوجة الطور الناقل العالية أو ان حشوة العمود ايضا ذات لزوجة عالية تكون الحزمة اعرض وعادة ما يستخدم الماء والاسيتونتريت كطور متحرك في الـ HPLC. اما في حالة كون الطور المتحرك غازا فيمكن اهمال تأثير اللزوجة.

4. درجة الحرارة Temperature كلما ارتفعت درجة الحرارة كلما قلت لزوجة العمود وكذلك الطور المتحرك وبالتالي الحصول على حزم ضيقة ومتماثلة.

5. السرعة الخطية liner velocity in mobile phase العوامل الثلاثة الاولى اذا صغرت قيمتها يؤدي ذلك إلى تحسين R لانها تؤدي إلى تحسين H. اما تقليل درجة الحرارة يؤدي إلى زيادة اللزوجة وزيادة H. واذا اردنا التركيز على العلاقة بين H وμ (velocity) اي معدل سرعة الطور المتحرك يمكن الحصول على المنحني البياني

ملاحظات حول المنحني:-

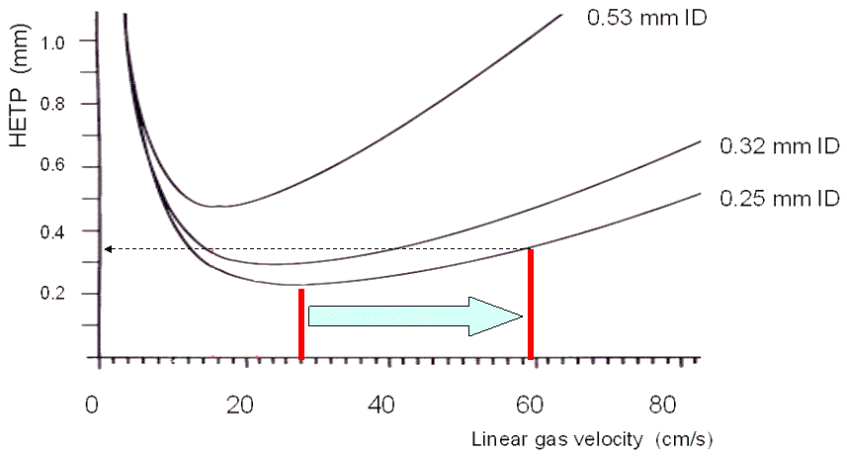
اولا: تقل H بزيادة السرعة إلى نقطة الـ optimum.



شكل (18- 19) القيمة المثالية لسرعة السائل المتحرك

ثانيا: ثم تزداد بزيادة السرعة.

ثالثا: نقطة الـ minimum ليست واضحة في كروماتوغرافيا الغازولكنها اكثر وضوحا في كروماتوغرافيا السائلLC.



شكل (18- 20) القيمة المثالية لسرعة الغاز الناقل

ولذلك فان H في الـ GC اكبر من H في الـ LC liquid chromatography فاذا ابتعدنا عن نقطة الـ minimum بزيادة أو نقصان السرعة فان H سوف تزداد لذلك تعتبر اقل قيمة لـ H هي التي تحدد قيمة السرعة التي نريد ان نحصل عليها، اذن H minimum التي هي عبارة عن μ minimum معدل السرعة المثالية لـ Mobile phase، اي بعبارة اخرى اصغر قيمة لـ H تعطي N من عدد الصفائح النظرية.

نظرية السرعة Rate Theory

توصل مجموعة من الباحثين الكيمياويين البولنديين الذين يعملون في حقل النفط إلى اشتقاق معادلة تربط بين H و μ تدعى Van Demeter Equation وهي:

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu. \quad (1)$$

C, B, A ثوابت.

ان المعادلة اعلاه تمثل بنظرية السرعة وهي مكملة لنظرية الصفيحة والتي يمكن كتابتها بشكل اكثر تفصيل مايلي:

$$H = A + \frac{B}{u} + C_S u + C_m u$$

μ=السرعة الخطية للطور المتحرك.

C_S = الكتلة المتنقلة mass transfer from & to stationary phase

Cm = الكتلة المتنقلة mass transfer from & to mobile phase

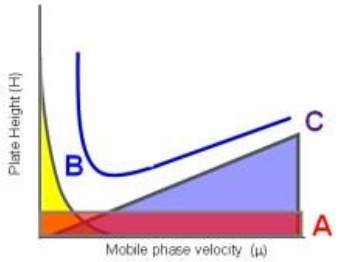
ويمكن التعبيرعن معادلة فان ديميتروتاثير مسارات العينة بالشكل الاتي:

$$H = A \cdot d_p + B/\mu + C \cdot d_e^2 \cdot \mu$$

Eddy Diffusion
Multi-path Effect

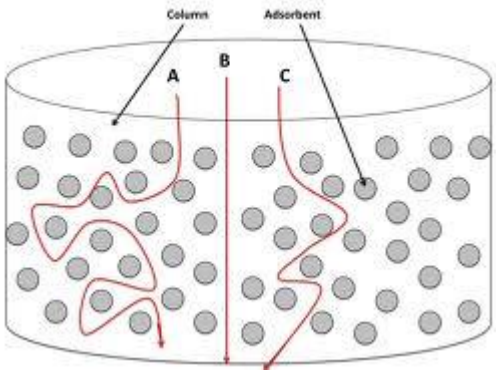
Longitudinal Diffusion

Mass Transfer (Kinetics)



شكل (18- 21) يمثل معادلة فان ديميتر.

A، eddy diffusion = تمثل المساهمة في المسلك الغير المتساوية أو عدم الانتظام في المسالك التي يمر بها الطور المتحرك حاملا المواد المراد فصلها كما انه يعبرعن الحركة العشوائية للجزيئات في العمود وهنالك ثلاث احتمالات لحركة الجزيئات داخل العمود كما مبين في الشكل الاتي:

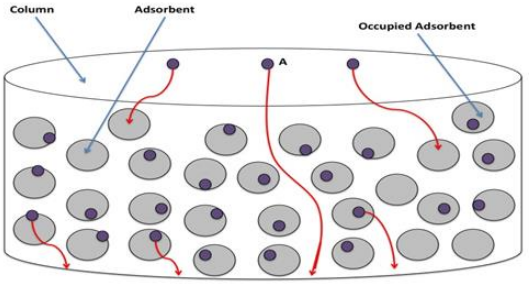


شكل (18– 22) المسالك التي يمر بها الطور المتحرك

الاولى تسير الجزيئات بخط مستقيم والاخرى تسير في خط قليل التموج اما الاحتمال الثالث فتسير بخط كثير التموج وبالاتي يكون هنالك جزيء اسرع من الاخر وهذه الحركة العشوائية تؤثر على H. وهذا التاثير ثابت للعمود الواحد. هذا التأثير يسمى بالـ multi path وكما موضح في الشكل(17–22) .

B = الانتشار الطولي longitudinal diffusion أو الانتشار الجزيئي molecular diffusion هو عبارة عن تمدد الجزيئات اتجاهات مختلفة يمكن ان يدخل للطبقة ويأخذ

وقت داخل الطبقة ثم يخرج من الطبقة ثم يبتعد عن السطح. لحركة التركيز على احد الجانبين تكون حركة الانتشار اما للاعلى أو للاسفل وبالتالي يؤدي إلى زيادة الطبقة التي ينتشر بإتجاهها (بإتجاه المناطق ذات التركيز الاقل) وهذا يؤدي إلى زيادة حجم الطبقة. ونلاحظ هذا التاثير يظهر في الطور المتحرك ويظهر جليا عندما يكون الطور المتحرك غازيا فيكون فيGC له قيمة اما في HPLC يكون صفرا.



شكل (18- 23) يمثل مسار الجزيئات عبر خطوط مختلفة.

$\frac{B}{u}$(Longitudinal diffusion) = هي المساهمة من الانتشار على امتداد العمود وناتج عن concentration gradient الجزيئات في التركيز العالي تنتقل إلى مناطق في إتجاه تراكيز اقل وبالاتي يزيد عرض الطبقة. وعلى الرغم من امكانية حدوث الانتشار في الطورين الثابت والمتحرك فان هذا التاثير واضح فقط في الطور المتحرك وعندما يكون هذا الطور غازي (GC) وفي HPLC يكون B=0 اذ $C_S u$ = تمثل المساهمة من عدم التوازن.

اذا كانت السرعة عالية فان B تقل وC تزداد وكلاهما يؤثران على H ولا بد من الوصول إلى سرعة مثالية لا تكون عالية ولا قليلة يكون عندها الفصل وعرض الحزمة ووقت الاسترجاع بشكل مثالي. ويوجد حالتين أو معادلتين واحدة في حالة الطور الثابت الصلب واخرى للطور الثابت السائل.

$C_m\mu$ (Mass trancefer in mob. ph.)= تمثل انتقال الكتلة في الطور المتحرك وهذا الجزيء يعتمد على حجم الحبيبات ويتناسب طردياً مع مربع قطر الحبيبات ومربع قطر العمود والسرعة والتاثير الكلي يعتمد على سرعة التدفق الطور المتحرك وعلاقة $C_m\mu$ مع H ليست خطية بل عبارة عن curve.

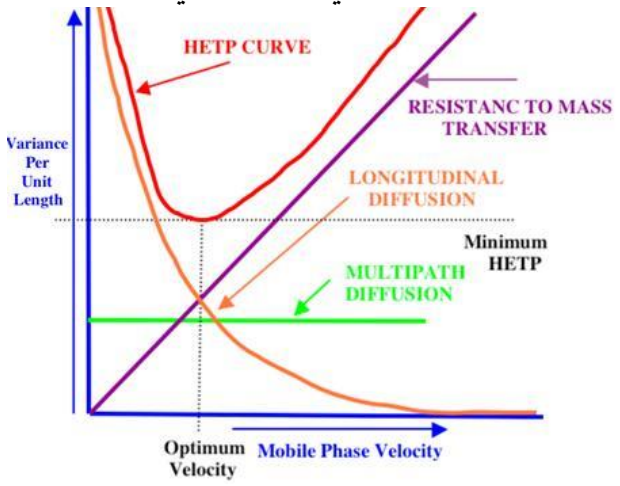
جدول (18– 3) كيفية حساب المتغيرات السابقة

Process	Fermi equation	Relation ship
Longitudinal diffusion	B/u	$\frac{B}{u} = \frac{2K_D D_m}{u}$
	Csμ	$C_m\mu = \frac{9K'd^2 f_u}{(1+K')^2 D_S}$
	$C_m\mu$	$C_m\mu = \frac{t(d^2p.d^2C\mu)}{D_m}$

جدول (18– 4) الرموز والوحدات المستخدمة

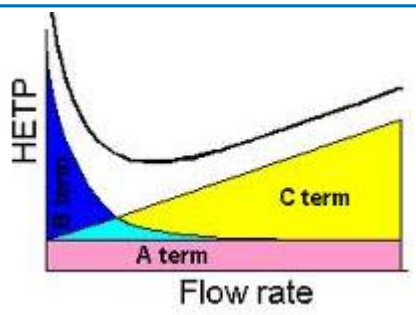
	الرمز	الوحدة
Linear velocity of mobile phase	μ	cm. sec^{-1}
Diffusion coefficient in mobile phase	Dm	Cm^2. sec^{-1}
Diffusion coefficient in stationary phase	Ds	Cm^2. sec^{-1}
Capacity factor	K'	Unit less
Diameter of packing particle	dp	cm
Thickness of liquid coating on stationary phase	df	cm

علاقة العوامل الثلاثة بالسعة الخطية تعطي بالشكل الاتي:



شكل (18 -24) for GC multi path diffusion وهذه الحالة لـ GC process للربط بين H و μ

ام للعلاقة بين H و μ لـHPLC فيمثلها الشكل الاتي:

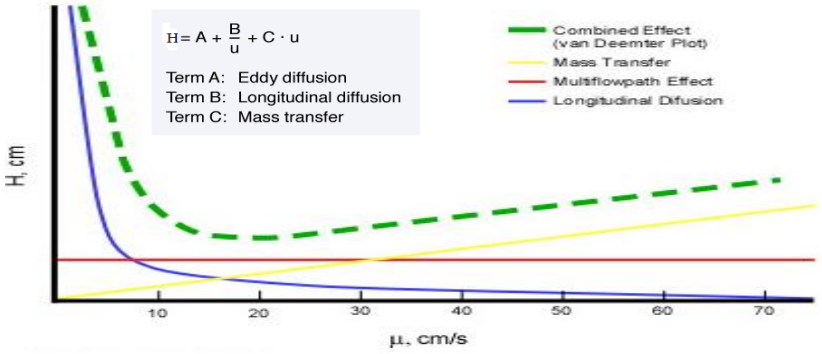


شكل (18- 25) هذه العلاقة for HPLC multi path diffusion

نهتم دائما بالحصول على H/μ curve وذلك يكون عملياً باخذ تركيز معين ثم نقيسه على الجهاز عند عند سرعة خطية معينة ثم نحصل على عدد الصفائح N من زمن الاحتجاز ثم نحسب H نكرر العملية عند اكثر من سررعة خطية قد تكون 10 ثم نرسم العلاقة وبذلك نحصل سرعة مثالية. ولكن هذه العملية تاخذ وقت طويل وقد تستغرق يوم كامل أو اكثر ولذلك نلجأ إلى عمل التجربة السابقة ثلاث مرات فقط وبعد اخذ التفاضل إلى معادلة فان ديميتر نحصل على ثلاث معادلات بثلاث مجاهيل A، B، C يمكن من خلالها نحسب H من N. هذه العملية تعمل لمادة واحدة وتصلح لعدد اثر من المواد.

– كيفية الوصول إلى كفاءة عالية في الفصل

من العوامل المهمة هو ارتفاع الصفيحة H وسرعة الجريان μ المتمثلة بمعادلة Van Deemter اذ تعتمد كفاءة العمود على سرعة الجريان flow rate مع وجود ثلاث ثوابت.



شكل (18- 26) العوامل الثلاثة في معادلة Van Deemter

لكل عمود هذه العوامل الثلاثة أو علاقة C,B,A بالعلاقة الخطية التي يمكن تمثيلها بالشكل البياني رقم (17–26) والوصول إلى H&μ مثاليين لعملية الفصل الكروماتوغرافي حيث يمكن ايجادهما عمليا بأخذ تركيز معين ثم يقاس عند flow rate معينة لنحصل على

الحزمة التي من خلالها يتم حساب عدد الصفائح النظرية N من قانون t_R ثم نحسب H عمليا ويمكن تكرار هذه العملية حتى نحصل علىoptimization μ ويمكن اعادة التجربة لثلاث مرات اختصاراً للوقت والجهد واذا فاضلنا المعادلة السابقة بالنسبة إلى μ.

$$\frac{dH}{d\mu} = A + \frac{B}{\mu^2} + C$$

واذا المعادلة = صفر.

$$\frac{dH}{d\mu} = 0 + \frac{B}{\mu^2} + C$$

$$0 = \frac{B}{\mu^2} + C$$

$$\mu\ optimum = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

μ Optimum = هي السرعة المثالية التي نريد الوصول اليها.

$$H = A + \frac{B\sqrt{C}}{\sqrt{B}} + \frac{C\sqrt{B}}{\sqrt{C}}$$

$$H_{minimum} = A + 2\sqrt{BC}$$

عندما نعمل علاقة بين μ&H ناخذ ثلاثة قراءات على الاقل لـ μ حتى نحسب H لكل حزمة عند ثبات التركيز وتغيير سرعة الجريان لكل قراءة ومن خلالها نحسب قيمة الثوابت A&B.

مثال: الجدول الاتي يحتوي على بيانات لعمود الكروماتوغرافي بعد النتائج التجريبية من المطلوب تحديد μ & N الأمثل:

Run	μ(cm/sec)	t_R(sec)	W(sec)
1	1.8	500	108
2	2.5	200	34
3	5.0	100	18

Run 1 $n = (\frac{4t_R}{w})^2 = (\frac{4\times500}{108})^2 = 343$

$H = \frac{L}{n} = \frac{150}{343} = 0.437cm$

Run 2 $n = (\frac{4\times200}{34})^2 = 552$

H=0. 271cm

Run 3 n= 493

H = 0. 303

$$H = A + \frac{B}{\mu} + C\mu$$

Run 1 $\rightarrow 0.437 = A + \frac{B}{1.8} + 1.8C$

Run 2 $\rightarrow 0.271 = A + \frac{B}{2.5} + 2.5C$

Run 3 $\rightarrow 0.303 = A + \frac{B}{5} + 5C$

وبحل هذه المعادلات ينتج:

A=0.0075 cm

B=0.386 cm^2/sec

C=0.044 sec

$$\mu_{opt} = \sqrt{\frac{B}{C}} = 3.0cm/sec$$

$$H_{min} = A + 2\sqrt{BC} = 0.268cm$$

اذن يمكن ان نستنتج:

$$n = \frac{L}{H} = \frac{150}{0.268} = 559 \text{throritical plate}$$

هذه العملية يمكن ان تصلح لمادة واحدة ويمكن ان تصلح لعدد من المواد.

لتعديل عرض الحزمة أو لتعديل عرض الطبقة تعتمد على حالتين:-

1. قطر الحبيبات
2. قطر العمود

اذ ان كلما قل حجم الحبيبات يكون optimum μ اسهل وياخذ الكيرف الشكل الخطي في GC نستطيع انقاص الانتشار الطولي بتقليل درجة الحرارة وبالتالي تقليل قيمة diffusion coefficient عند استخدام liquid stationary phase يجب اختيار سمك مناسب thickness صغيرة لهذا الغرض لانه اذا كانت الطبقة سميكة يزيد عرض الطبقة فيؤثر على H وبالاتي يمكن زيادة احتمال حصول الـ diffusion. واذا كانت الطبقة رقيقة جدا فلا نستطيع تحميل العمود (الحالة الوسطية بين الحالتين)، لانه عندما تكون رقيقة لا يمكن تحميل العمود بكمية كبيرة من الـ Analyte اي حصول Over loading سريع على

العمود اذ ان كمية stationary phase لها علاقة مباشرة مع كمية المواد التي يمكن تحميلها على العمود.

تقييم عمل العمود Optimization of column performance

اجراء الـ optimization عن طريق تقليل عرض الطبقة في العمود reduce band broading أو تغيير سرعة الحركة النسبية لجزيئات مادة معينة relative migration rate فزيادة عرض الطبقة يعتمد على المتغيرات الميكانيكية التي تزيد H اما تغيير الحركة النسبية يحصل بتغيير التغيرات التي تؤثر على ثابت السعة K' أو على selectivity factor (α) لكي ندرس تأثير كل من α & K' على الـ resolution يجب ان نطور علاقة تربط بين N, R, α, K_B', K_A'.

$$N = 16(\frac{t_R}{w})^2$$
$$A = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$
$$\alpha = \frac{K_B'}{K_A'}$$
$$t_{RA} = K'A^{-1}$$
$$t_{RB} = K'B^{-1}$$

اذا اريد ربط العلاقات معاً بعلاقة واحدة:

$$R = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{w} \rightarrow w = \frac{4(t_R)_B}{\sqrt{N}}$$
$$R = \frac{(t_R)_B - (t_R)_A}{(t_R)_B} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}$$
$$R = \frac{t_m(K_B' + 1) - (K_A' + 1)}{t_m(K_B' + 1)} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}$$
$$R = \frac{t_m(K_B' - K_A')}{t_m(K_B' + 1)} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}$$
$$R = \frac{\frac{K_B'}{K'-1}}{\frac{K_B'+1}{K_A'}} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}$$
$$R = \frac{\alpha - 1}{\frac{K_B'+1}{K_A'}} \cdot \frac{\sqrt{N}}{4}$$

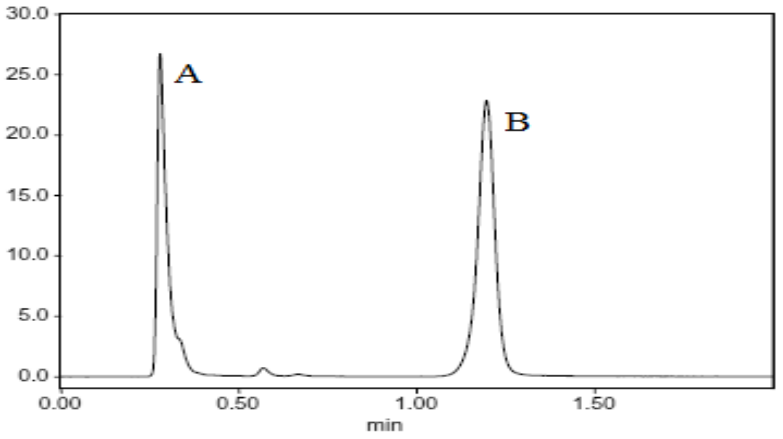
بضرب المعادلة السابقة في $\frac{K'_B}{K'_B}$:

$$R = \frac{\sqrt{N}}{4}\left(\frac{\alpha - 1}{1}\right)\frac{K'_B}{1 + K'_B} \dots (1)$$

يمكن تطوير المعادلة رقم (1) وترتيبها بالشكل الاتي:

$$N = 16R^2\left(\frac{\alpha}{\alpha - 1}\right)^2\left(\frac{1 + K'_B}{K_B}\right)^2 \dots\dots\dots (2)$$

تعطي علاقة بين N والوقت اللازم لانتهاء الفصل وخروج المادة B على اعتبار ان B آخر مادة تخرج من العمود. من المرغوب فيه الوصول إلى اعلى resolution مع مراعاة وقت التحليل على ان يكون اقل مما يمكن لكن الوصول للهدفين في آن واحد صعب وبالتالي يجب الوصول إلى حل وسط اي resolution مقبول ووقت مقبول. اذ يمكن تطوير المعادلة.



شكل (18 – 27) كروماتوكرام لفصل A,B

$$\mu_B = \frac{L}{t_{R(B)}}$$

$$\mu_B = \mu\frac{1}{1 + K'}$$

$$H = \frac{L}{N} \rightarrow N = \frac{L}{H}$$

$$(t_R)_B = \frac{16R^2}{4}.H\left(\frac{\alpha}{\alpha - 1}\right)^2\frac{(1 + K'_B)^3}{(K'_B)^2}$$

t_{RB} = وقت انتهاء الفصل.

المعادلتين (1) و(2) تستخدم في معرفة الظروف اللازمة للوصول إلى فصل نظيف في وقت قصير. كل معادلة مكونة من 3 اجزاء هي R, α, K'.

الجزء الاول الذي يحتوي على N له علاقة بالـ kinetic effect التأثيرات الحركية التي تؤدي إلى زيادة عدد الصفائح النظرية ولها علاقة بـ H بالمعادلة النهائية.

الجزء الثاني والثالث من المعادلة (3) الذي يحتوي على α ,K' له علاقة بمكونات العينة التي نريد فصلها. القيم الاساسية يمكن التحكم بها لوحدها.

مثال: المادة A,B

Substance A,B were found to have t_R of (16.4) and (17.63) minutes on column length is 30.0 cm. Unrented species passed through the column in (1.3mm) w of A,B 1.11and 1.21 min calculate:-

a. Resolution
b. N (average number)
c. the plates height d. L e. $t_{R(B)}$
d. the place height required for R of 1.5 on the original 30 cm column and the original time.

الحل:

a. $R = \frac{2\times(17.63-16.40\text{min})}{1.11+1.21} = 1.06$

b. $N = 16(\frac{16.4\ \text{min}}{1.11\text{min}})^2 = 3.49\times10^3$

and $N = 16(\frac{17.63\text{min}}{1.21})^2 = 3.40\times10^3$

$$N_{avarage} = \frac{N_1+N_2}{2} = \frac{3.49\times10^3+3.40\times10^3}{2}$$

$N_{avarage} = 3.4\times10^3$

c. $H = \frac{L}{N} = \frac{3.0\text{cm}}{3.44\times10^3} = 8.7\times10^{-3}\text{cm}$

K'and α donot change with increasing the N, L

ملاحظة: K', α لا يمكن ان تتغير بزيادة عدد الصفائح وطول العمود.

$$\frac{R_1}{R_2} = \frac{\sqrt{N_1}}{\sqrt{N_2}}$$

نعوض عن القيم فنستخرج N_2 عدد الصفائح في الحالة الثانية:

$$\frac{1.06}{1.5} = \frac{\sqrt{3.42\times10^3}}{\sqrt{N_2}}$$

$N_2 = 3.44 \times 10^3 (\frac{1.5}{1.06})^2 = 6.9 \times 10^3$

d. L= N×H= $6.\ 9\times10^3\times8.\ 7\times10^{-3}$=60cm

e. $\frac{(t_R)_1}{(t_R)_2} = \frac{(R_1)^2}{(R_2)^2} = \frac{17.63}{(t_R)_2} = \frac{(1.06)^2}{(1.5)^2}$

$(t_R)_2$= 35min

f. $H_2 = H_1 \frac{(R_1)^2}{(R_2)^2} == 8.7 \times 10^{-3}\, cm \frac{(1.06)^2}{(1.5)^2} = 4.3 \times 10^{-3} cm$

نعود إلى العلاقات بشكل عام α ,K'.

1. يمكن تغيير قيمهم بتغيير درجة الحرارة أو تغيير تركيبة الطور المتحرك وتغيير طبيعة الطور الثابت packing nature of stationary phase.

2. التغيير في N لزيادتها لتحسين الـ R يمكن ان يكون عن طريق.

a. تغيير طول العمود (ربط اعمدة اخرى مع العمود الاول).

b. تغيير H عن طريق تغيير flow rate.

c. تغيير الـ H عن طريق تغيير حجم الحبيبات وبالاتي تغيير stationary phase

3. التغيير في اللزوجة viscosity للطور المتحرك أو سماكة الطور السائل الثابت liquid stationary phase.

تغيير عدد الصفائح النظرية من المعادلة السابقة يمكن تحسين R عن طريق زيادة N ويمكن ان تكون هذه الطريقة مكلفة من ناحية الوقت. اذ ان زيادة طول العمود يؤدي إلى زيادة N ستحصل عن طريق تقليل H عندها نغض النظر عن الوقت.

تغيير K' يمكن تحسين الفصل عن طريق التلاعب في ثابت السعة.

زيادة K' يؤدي إلى تحسين R ولكن على حساب الوقت يمكن كتابة المعادلة السابقة:

$$R = \emptyset \frac{K'_B}{1 + K'}$$

$\emptyset$ تمثل كل الثوابت.

$$(t_R)_B = \emptyset' \frac{(1 + K'_B)^3}{(K_B)^2}$$

$\emptyset'$ تمثل الاجزاء الباقية للمعادلة.

اذا كانت قيمة K' اكبر من 10 فذلك لا يفيد لانها لن تحسن R لانه يصبح ثابت مع زيادة الوقت. من اسهل طرق تحسين R عمل optimization لـ K' في الـ GC عن طريق التحكم بدرجة الحرارة.

في الـ HPLC عن طريق تغييرتركيبة مزيج السوائل وعلى هذا الاساس نلاحظ تتفاوت بسبهم مع بعضهم البعض. α عندما تكون 1 يعني ان المادتين متطابقة، وعند محاولة تغيير α أو N أو K ولا تؤدي إلى نتيجة فلابد من رفع قيمة α بأبقاء K' ثابتة عند قيمتها المثلى. لاجراء هذا التغيير يوجد اربعة امكانيات مرتبة تنازليا وهي:-

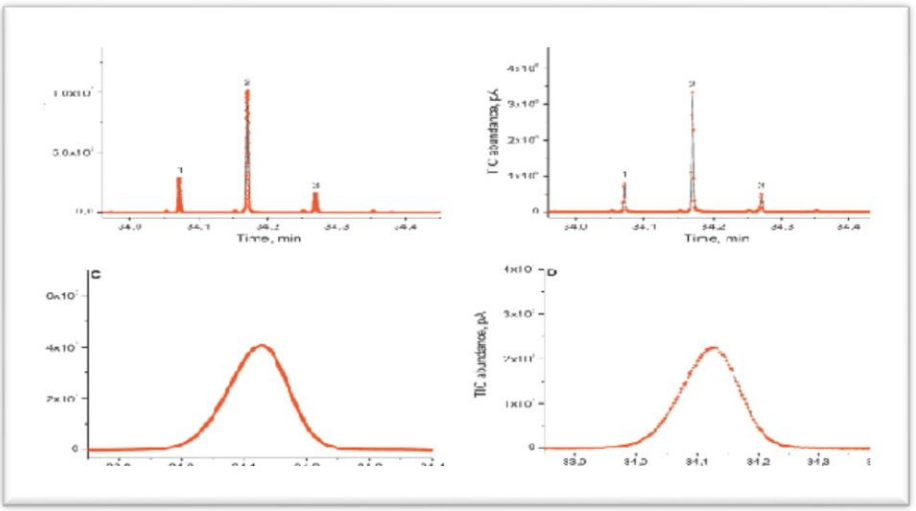
1. تغيير تركيبة الطور المتحرك بما فيه قيمة pH.
2. تغيير درجة حرارة العمود.
3. تغيير تركيبة الطور الثابت.
4. محاولة استخدام بعض المواد الكيمياوية لتغيير سطح الطور الثابت.

تفسير وتحليل الشكل الكروماتوغرامي interpretation of chromatograms

وضع الاجهزة المطيافية ثابت ومستقر لفترة طويلة وينطبق عليه قانون لامبرت بير. اذا كان التركيز لا يقع range فيجب ان تخفف التركيز حتى تكون القيمة ضمن الـ range. هذه تحصل في الطريقة الطيفية امالكروماتوغرافيا قد لا يحصل هذا. فالمعلومات التي يمكن الحصول عليها بالكروماتوغرام هي:

1. معلومات نوعية qualitative information
2. معلومات كمية quantitative information

من المعلومات النوعية يمكن التعرف على مادة الـ Analyte من خلال معرفة وقت الاسترجاع t_R لها حيث نحقن عينة من المجهول ثم نحقن عينة اخرى من المعلوم Standard فاذا ظهر الاثنان عند نفس الـ t_R تكون المادة نفسها هذه الطريقة تعطي نسبة تأكد 95% ولمزيد من التأكد نغير الـ condition الظروف الاخرى على العمود كتعديل للطور المتحرك أو تغيير في الـ flow rate والحصول على حزمة المجهول وحزمة المعلوم القياسي فاذا حصلنا على نفس t_R نكون نسبة التأكد 99%.



شكل (18- 28) اعتماد وقت الاسترجاع في التحليل النوعي

التحليل الكمي quantitative analysis

هو طريقة فصل وتحديد كمية المادة والتعرف على نوعها ومن مساحة الحزمة أو ارتفاعها يمكن تحديد كميتها أو تركيزها أو نسبتها المئوية لذلك المكون بعد المقارنة مع مواد قياسية وعندما لا تكون القمة متماثلة nonsymmetrical يمكن تحديد التركيز بواسطة peak area. توجد عدة طرق لحساب peak area نأخذها حسب الترتيب الزمني من الاحدث إلى الاقدم:

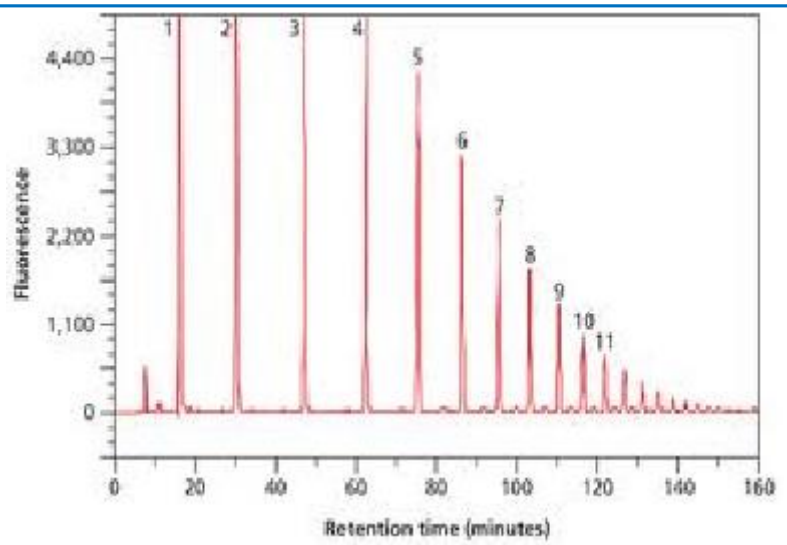
1- طرق حساب الـ peak area

- الطريقة التكاملية Integration of micro process

الجهاز يبدأ برسم الـ peak شكل(17-29) ثم يسجل t_R عندما تبدأ الـ peak بالنزول ثم يقوم بعملية التكامل للمساحة تحت الـ peak. بعد ان ينتهي ظهور peak وهذه تتم حسب برمجة مسبقة لان النتائج تكون على شكل ورقة. تتضمن جميع الـ peaks الخاصة بالتحليل ثم تظهر النتائج بشكل جدول يتضمن المعلومات الاتية:

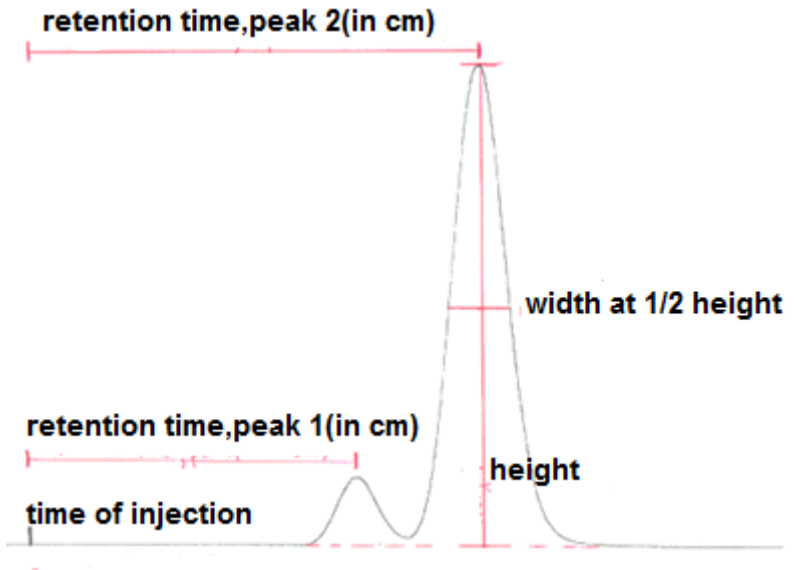
Peak .No	Retention time	band	Name of compound	peak height	Peak area	% Area	Volume %

وهذه الطريقة المعمول بها في الاجهزة الحديثة التي تعمل ضمن مجموعة من البرامج التي تدير الاجهزة الكروماتوغرافية بشكل آلي.



شكل (18–29) الطريقة التفاضلية

ب– طريقة حساب مساحة peak على اعتبار انها مساحة مثلث شكل(17–30)



شكل (18–30) مساحة المثلث

$$A = \frac{1}{2}hw$$

اذ ان: A = مساحة الـ peak

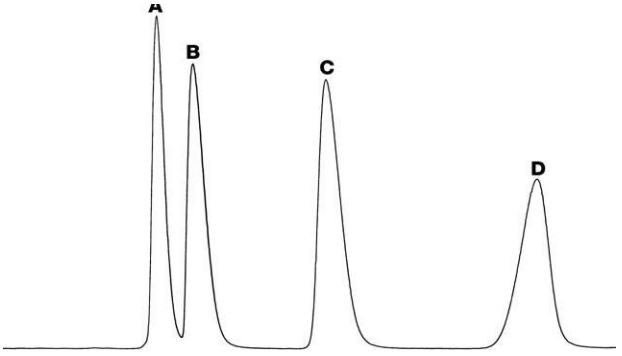
h = الارتفاع. W= عرض الـ peak عند منتصف الارتفاع.

ج- الطريقة الثالثة هي قص الورقة التي تمثل الـ peak ونوزنها اي نأخذ الورقة التي عليها الكروماتوغرام ثم نقوم بقص الـ peaks كل على حدة ونزنها كل على حدة بالميزان الحساس ثم نجمع الاو زان ومنها نحسب النسبة المئوية لكل مكون. وختى نتأكد من العملية نعيد التجربة لثلاث مرات ونأخذ المعدل لـ peak ويجب ان لا يزيد الانحراف المعياري standard diffiation عن 3% والافضل هوالذي يعطي relative standard (RSD) diffiation اقل. وتمت دراسة لمقارنة بين الطرق الثلاثة عن طريق حساب الانحراف القياسي النسبي فوجد الطيقة التفاضلية هي الافضل حيث كانت قيمة الانحراف القياسي النسبي 0.44% مقارنة مع طرقة المثلث كانت 2.6% في حين قيمتها في طريقة الوزن 1.64.

1- طريقة عامل الاستجابة The Response Factor Method

اذا كان لينا مزيج مكون من اربعة مواد A,B,C,D نحصل على كروماتوكرام ويمكن حساب كمية B وذلك بقياس حجوم القمم الاربعة وتقسيم حجم هذه القمم على مساحة الاربع قمم:

$$B = \frac{areaB}{areaA + areaB + areaC + areaD}$$



شكل 18- 31) كروماتوكرام من اربعة مواد

ثم قياس عامل الاستجابة لهذه المادة وذلك بقياس المساحة بواسطة وحدة الكمية المحقونة وتتلخص الطريقة بقياس عدد المايكرولترات أو بوزن المحقنة قبل وبعد الحقن وايجاد وزن المادة المحتوية بالمايكروغرام. كما يمكن قياس حجم القمة وذلك بالقسمة على كمية المادة:

$$\text{Response factor} = \frac{\text{peak size}}{\text{quantity of pure sample injected}}$$

ان كمية المادة المراد تحليلها في نموذج مجهول تقدر بعد ذلك بقياس حجم القمة للمادة المراد تحليلها من حقن كمية معلومة للمادة المجهولة ثم القسمة على معامل الاستجابة:

$$\text{Quantity of analyte} = \frac{\text{peak size}}{\text{response factor}}$$

ثم بعد ذلك نحسب النسبة المئوية للمادة المراد تحليلها كالاتي:

$$\%\ \text{of analyte} = \frac{\text{quantity of analyte}}{\text{total quantity injected}}$$

وفي هذه الطريقة فاننا نحتاج إلى قمة واحدة فقط ان نقيسها من بين الاربع قمم في المزيج لغرض الحصول على كمية المادة المفصولة. وان مشكلة هذه الطريقة اننا لا نقارن هذه القمم إلى المحلول القياسي أو ان المكشاف قد لايستجيب إلى جميع المكونات بشكل متساوي.

3- طريقة المحلول القياسي الداخلي Internal Standard Method

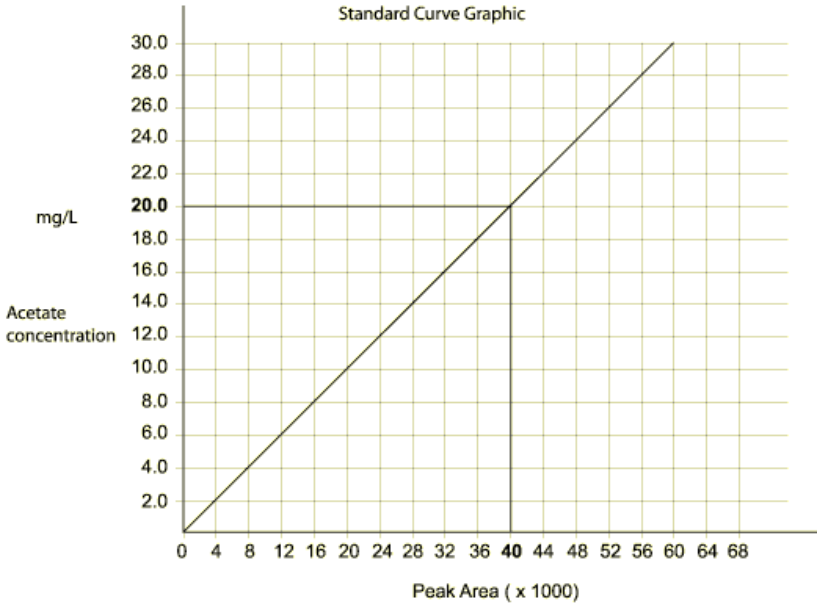
لما كان حجم القمة يتناسب طرديا مع تركيز المادة اذن من الممكن تحضير سلسلة من المحاليل القياسية ونحصل على قمم ذات احجام مقابل التراكيز وتكون هذه الطريقة مشابهة لقانون بير في القياس الطيفي على سبيل المثال. وان حجم كل قمة يتغير مع كمية المادة المحقونة لذلك نتغلب على هذه المشكلة باستخدام طريقة المحلول القياسي وذلك باضافة كمية ثابتة من المحلول القياسي الداخلي إلى كل من المحلول القياسي والمجهول وتسمى هذه العملية بالمسبكة (spiked).

وتتلخص طرق العمل بقياس حجم القمم لكل من المحلول القياسي الداخلي (IS) والمادة المراد تحليلها ثم تقسم مساحة قمة المادة المراد تحليلها على مساحة القمة للملول القياسي الداخلي ونرسم خط بياني بين نسبة المساحات هذه مقابل تركيز المادة المراد تحليلها وحتى لوحصلت بعض التغييرات من حقنة إلى اخرى ولكن تبقى النسبة تبقى ثابتة.

4- طريقة الاضافات القياسية Standard Additions Method

يتم اضافة كميات متزايدة من المادة القياسية إلى محلول النمذج المحهول وبعد التحليل نقيس مساحة القمة الناتجة من كل منها فنلاحظ تتزايد القمم للمحاليل القياسية طرديا مع زيادة التراكيز. هذه الطريقة لا تكون مفيدة في GC كما هوالحال في مطياف الامتصاص الذري باللهب وذلك بسبب ان المكونات الخلقية matrix للنموذج يتم فصلها. وقد تكون مفيدة عندما يكون النموذج المراد تحليله يحتوي على مركبات تصلح كمحلول قياسي وبذلك يكون لاحاجة لاضافتة إلى المحاليل القياسية والنموذج لانه موجود اصلاً في المحلول.

ومن اهم مصادر الخطأ عندما نعمل معايرة calibration لـ curve ولكن في الوقت الحاضر نعمل المعادلات الاحصائية (معادلة الخط المستقيم) لكل calibration curve نستخرج منه نقطة تقاطع التي تمثل التركيز في حالة معرفة المساحة كما في الشكل (17-32).



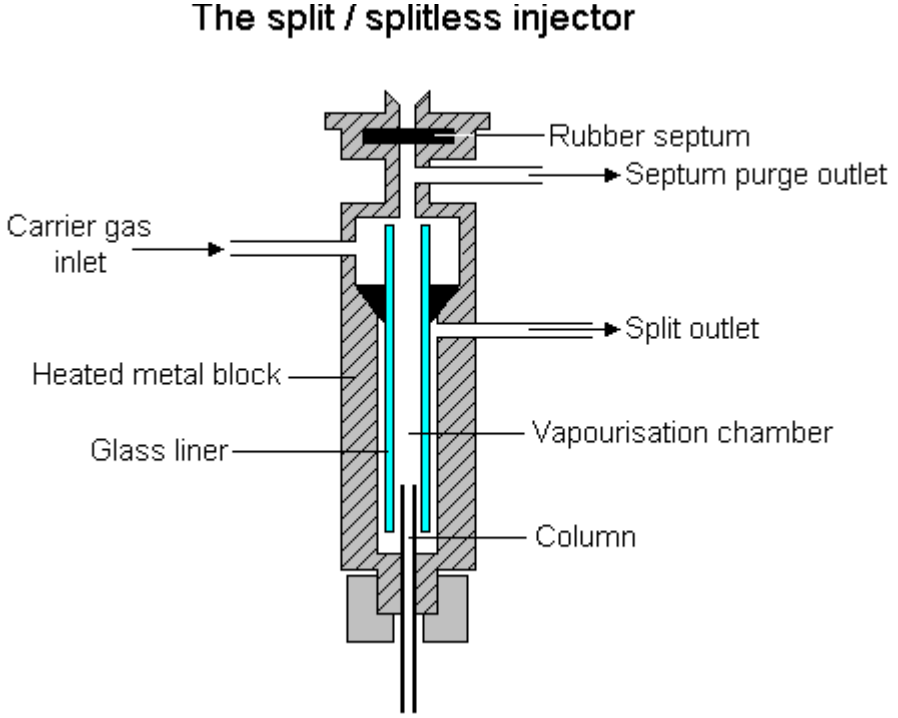
شكل (18- 32)

ومن اهم مصادر الخطأ في تحضير calibration curve في الكروماتوغرافي:-

1. سرعة الحقن.
2. عدم الدقة في قياس حجم العينة.

سرعة الحقن اذا كانت عملية الحقن بطيئة (مكان الحقن عبارة عن sptum وهو عبارة عن قطعة من التفلون) فأن جزء من العينة سيتجمع عند الطرف السفلي لـ septum

والعينة لن تصل إلى العمود دفعة واحدة بل ستصل على شكل دفعات فاذا كان حجم العينة 2ul فانها ستصل على شكل اجزاء قد يكون كل منها 0.1 ul.



شكل (18-33) جهاز الحاقن

نظرا لوجود الضغط حول العمود الذي سيدخل العينة بسرعة فيحصل broad peak لذلك عملية الحقن يجب ان تكون سريعة بضغط الـ plunger للسرنجة مرة واحدة حتى تخرج العينة من الـ septum على شكل رذاذ وتصل إلى العمود. عملية سحب وحقن النموذج بالجهاز مهمة جداً في تلافي الاخطاء التحليلية.

عدم الدقة في قياس حجم العينة ذلك يحدث عند سحب العينة بواسطة السرنجة حيث يمكن ان تدخل فقاعات هوائية تغير الحجم الفعلي للعينة ولتفادي دخول فقاعات الهواء نعمل عملية pumping للسرنجة اي تحريك السرنجة داخل العينة من 3– 4 مرات بسرعة حتى يخرج كل الهواء من السرنجة ثم نسحب العينة ببطء إلى داخل السرنجة. كذلك الضاغط plunger يجب ان يكون ثابتا اثناء عملية الحقن حتى لا يدخل الهواء إلى السرنجة داخل الحقن وتصنيع العينة وحتى نحقق احيانا نريد نعمل عملية تحليل مرة أو مرتين. وتعين internal standard القياسي الداخلي وهذا يستخدم في ظروف الكروماتوغرافي وهي مادة:

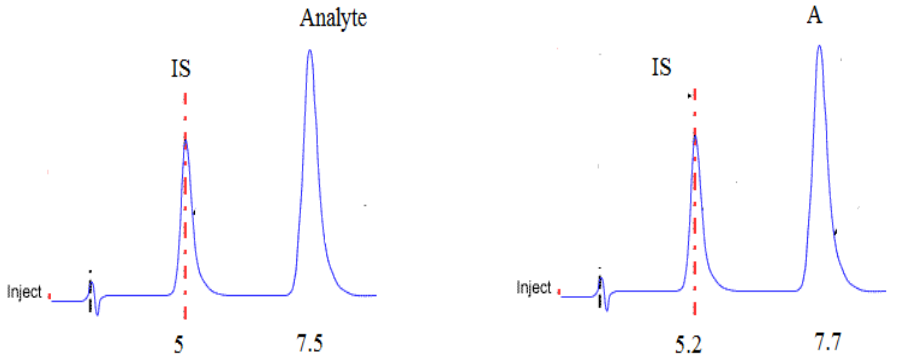
1. تتصرف على العمود بنفس طريقة الـ analyte
2. لها t_R معقول نسبة إلى t_R للـ Analyte
3. تكون مفصولة عن المواد التي نريد تحليلها (تكون متميزة) عملية اختيار المادة لتكوين internal standard يكون مركب شبية بالمركبات المراد تحليلها. فاذا كان المطلوب تحديد الاوليفين فيجب ان يكون الداخلي القياسي قريب له ولكن باختلاف بسيط. مثلا نريد تحديد بارا مثيل فينول و2، 4 – داي مثيل فينول ممكن ان يكون القياسي الداخلي هواو رثواثيل فينول.

هنالك سببين لاختيار internal standard

1. التأكد من t_R للـ Analyte في كروماتوغرام اذ من وقت اللقاء لاخر قد يحدث تغيير في t_R نتيجة:-
   a. تغير في درجة الحرارة.
   b. اتساخ العمود (عند العمل على العمود لفترات زمنية طويلة) الجهاز يجب ان يعمل لفترة طويلة حتى يقيس قياسات مضبوطة وبنتائج معقولة.
   c. يمكن ان يختلف باختلاف الضغط الجوي.

اذا حدث هذا الاختلاف في t_R للـ Analyte يصبح هنالك شك ولكن بوجود الـ internal standard نتغلب على هذا الشك فاذا تغير t_R للـ Analyte سيتغير ايضا للـ IS فيجب ان يبقى relative t_R والذي يرمز له Relative retention time (RRT) شكل(17-34)

$$RRT = \frac{(t_R)\text{Analyte}}{(t_R)\text{Internal standard}}$$



شكل (18- 34)

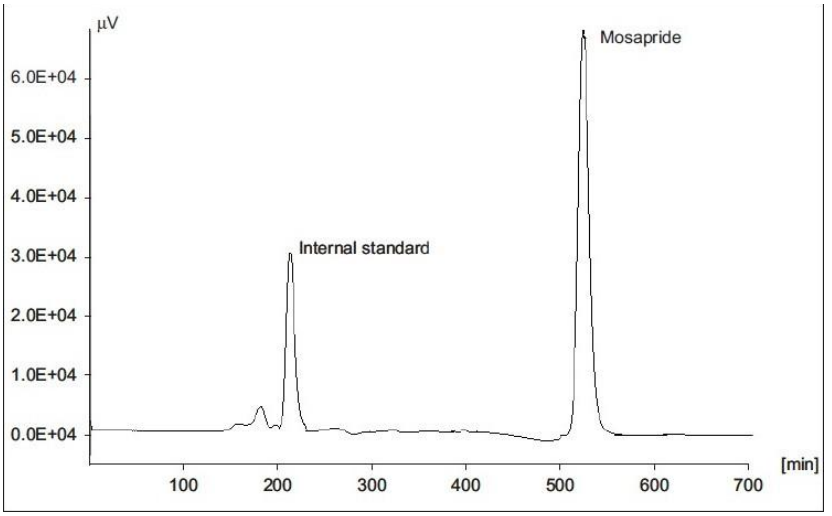
RRT = 7. 5/5 = 1. 5 & RRT= 7.7 / 5. 2 = 1.51

يجب ان لا تختلف القيمتان كثيرا فيجب ان تتشابهان في أول منزلة بعد الفارزة.

2. الغاء عدم الدقة في قياس حجم العينة: اذا دخلت فقاعة في السرنجة فان ذلك يؤدي إلى تركيز حجم العينهي وIS بنفس المقدار حيث يصل إلى relative retention time ثابت.

$$\text{RRA} = \frac{(\text{PA})\text{unknown}}{(\text{PA})\text{IS}}$$

يجب ان يكون تركيز الـ IS في جميع العينات ثابت. وذلك بتذويب جميع العينات بمحلول يحتوي على تركيز ثابت من IS.



شكل (18- 35)

اسئلة الفصل الثامن عشر

1- دورف الرنماير يحتوي على مزيج من 6 مل من سيلكا جيل و40 مل من مذيب يحتوي على 100 ملغرام من مركب غير متطاير، بعد عملية الرج اخذ منه 10 مل واستخلص وجفف فكان الوزن المتبقي 12 ملغرام. احسب معامل الامتزاز $k = c_s/c_m$ للمركب في هذه التجربة.

2- اشرح فؤائد الطرق الكروماتوكرافية.

3- ناقش كفاءة الفصل في النظام الكروماتوكرافي.

4- ما المقصود بالتصفية التتابعية وتدرج التصفية التتابعية.

5- ماذا يستفاد من طاقة الامتزاز للمذيب أو المذاب.

6- ما الصفات المميزة التي جعلت كرماتوكرافيا الطبقة الرقيقة مفضلة على كرماتوكرافيا الورقة.

7- اشرح انتشار آيدي Eddy diffusion.

8- اذا استخدمت عمود كان له $8V_S$ مل وV_m 2 مل ومعامل توزيع 5 مع زمن ميت 1.5 دقيقة. جد زمن احتجاز العينة.

9- وضح تاثير تغير سرعة الطور المتحرك (μ) على عزل أو فصل العمود مستخدما منحني h μ - (معادلة فان ديميتر).

10- مادتين A وB لهما زمن احتجاز 12.5،13.8 دقيقة على التوالي. عرض الحزمة عند خط الاساس 1.15 دقيقة للمادة A و1.125 دقيقة إلى B. احسب:

a- عامل فصل القمم R.

b- معدل عدد الصفائح لهذا العمود.

c- ارتفاع الصفيحة.

11- اجب بكلمة صح أو خطا مما ياتي:

a- كروماتوغرافيا التوزيع تستخدم عندما يكون الطور المتحرك سائل فقط.

b- تقنية الامتزاز تتضمن كروماتوغرافيا سائل صلب.

c- اذا كانت مادة الطور الثابت قطبية فان أول المكونات تخرج من العمود هي مادة غير قطبية.

d- قيمة R_f تستخدم للتحليل الكمي.

12- ما تاثير درجة الحرارة على معامل التوزيع وزمن الاحتجاز وحجم الاحتجاز وعامل الفصل في الفصل الكروماتوكرافي.

13- ما اكبر واصغر قيمة مقبولة للعزل (R) resolution.

14- صنف ستة انواع مختلفة من الكرومتوكرافيا. وضح الطور الساكن والطور المتحرك لكل نوع.

الفصل التاسع عشر
كروماتوغرافيا الغاز Gas Chromatography (GC)

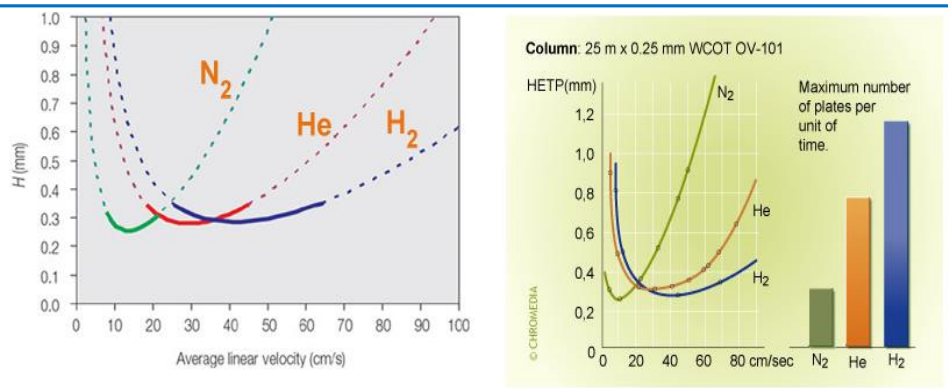
مقدمة:

في تقنية كروماتوغرافيا الغاز تسمى كروماتوغرافيا غاز – سائل GLC وهناك نوع اخر يسمى كروماتوغرافيا غاز – صلب GSC. ان اكثر الطرق المستخدمة في كروماتوغرافيا الغاز تستخدم طوراً مستقراً سائلاً وهكذا يجب التمييز بين كروماتوغرافيا التوزيع (partition Chromatography) والكروماتوغرافيا المبنية على الامتزاز (Adsorption Chromatography). اما الطور المتحرك فهو غاز ويطلق عليه الغاز الحامل (carrier gas) وهو من الناحية النموذجية عبارة عن غاز الهيليوم النقي أو النتروجين أو الاركون بالاضافة إلى الهيدروجين. يلاحظ ان غاز الهيدروجين من افضل انواع الغازات ويعطي افضل علاقة بين H & μ ويمكن استخدامه لسرعات جريان كبيرة الا ان استخدامه قليل بسبب الخوف من حدوث انفجار.

وبالرغم من الحصول على الغازات بنقاوة عالية خصوصا بعد استخدام مولدات الغازات الخاصة بأجهزة GC (مثل hydrogen generator or nitrogen generator) إلا انه يربط بمجرى الغاز الناقل قبل جهاز الGC انبوبة تحتوي على مواد ماصة للاوكسجين والرطوبة.

ومن المحاذير الاخرى لاستخدام الهيدروجين هوانه في درجات الحرارة العالية يمكن ان يعمل hydrolysis للروابط بين liquid stationary phase والجدار الداخلي للعمود.

وفي الأجهزة الحديثة يتم السيطرة على سرعة جريان الغاز الناقل أو ضغطة من خلال منظومات الكترونية تعمل بواسطة الكومبيوتر ترتبط هذه المنظومات بنقطة الحقن وتعمل هذه البرامج اما بتثبيت ضغط الغاز طيلة عمل الجهاز أو السيطرة على سرعة الجريان للغاز الناقل بشكل ثابت أو متغير برمجيا نحو الزيادة أو النقصان، لذلك لا نحتاج إلى تثبيت سرعة الجريان يدويا كما كان معمول به في الأجهزة القديمة.



شكل (19- 1) منحني H– u لغازات مختلفة

ويكون مصدر الغاز من أسطوانة غاز مضغوطة مزودة بمنظم ضغط يركب على الأسطوانة يزودنا بضغط على بداية العمود عند نقطة دخول الغاز إلى الحقن injector لا يزيد 10.50 psi أو ما يعادل 0.1– 3.4 ضغط جوي (bar). هذا الضغط يمكن ان يعطي سرعة سريان للغاز 30– 150 مللتر في الدقيقة للأعمدة المملؤة (packed column) اما للأعمدة الشعيرية (capillary column) تكون 1– 2 مل في الدقيقة. وللتنظيم الدقيق لضغط الغاز وسرعتة يستخدم صمام ابري مناسب (needle- valve) أو منظم للسرعات (mass flow controller) ومن مميزات منظم السرعات انه يحافظ على سرعة سريان ثابتة للغاز حتى في حالة إزدياد درجة الحرارة أثناء عملية الفصل، بينما الصمام الابرى لا يمكنة توفير ذلك. وكقاعدة عامة ينقى الغاز الحامل من الماء والاوكسجين أو أي شوائب أخرى قبل مروره بعمود الفصل وذلك يربط على الأسطوانة قطعة تسمى (cartrige) تحتوي على مواد يمكن ان تمتص الطروبة أو الاوكسجين الذي يعمل اكسدة للطور الساكن عند درجات الحرارة العالية اما الماء يعمل hydolysis للروبط بين الطور الساكن والجدار الداخلي والاجزاء الخارجية للجهاز تتكون من:–

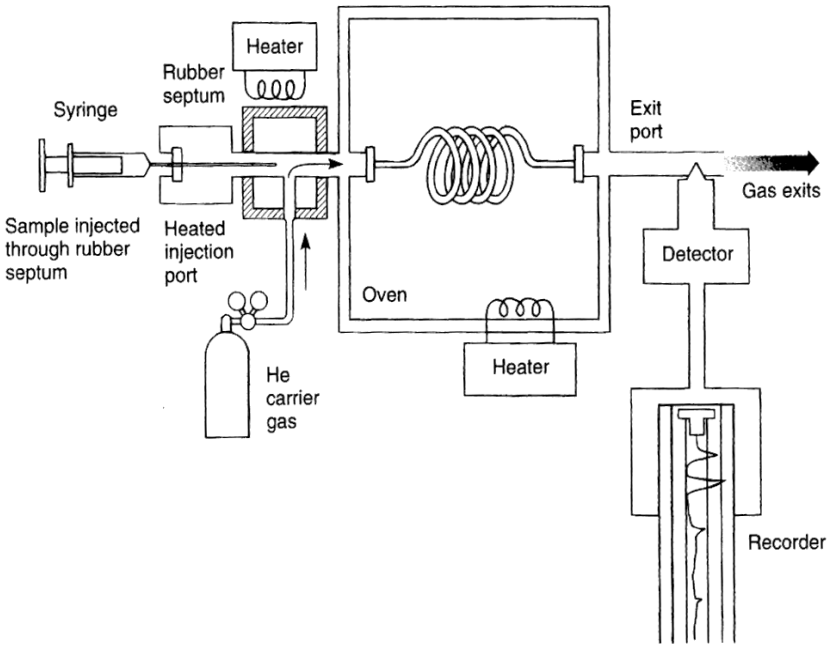
1. أسطوانة تحتوي على الغاز الناقل.
2. منظم ضغط الغاز ويحتوي على الاجزاء الاتية:–

أ. مقياس لمعرفة الضغط الداخلي للأسطوانة.

ب. صمام لتنظيم الضغط الخارج من الأسطوانة.

ت. مقياس لملاحظة الضغط الخارج من الأسطوانة.

ث. وقد تحتوي بعض المنظمات على مقياس سرعة الجريان flowmeter.

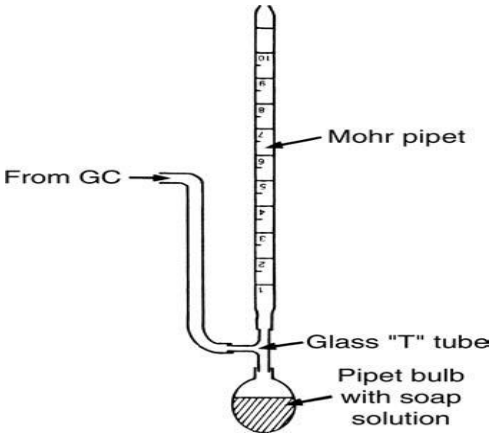


شكل (19- 2) الاجزاء المهمة لجهاز كروماتوغرافيا الغاز

<u>طريقة قياس حجم الغازات في كروماتوغرافيا الغاز:</u>

هناك مقاييس للسريان (flow rate) تكون متوفرة تجارياً. ان منظم الغاز ذو فقاعة الصابون البسيط غالبا ما يستخدم ويمكن تصنيعه من تركيب ماصة قديمة وانبوب زجاجي صغير وبصلة ماصة (simple bubble flow rate) كما مبين في الشكل (18–3) وتستخدم ساعة يدوية لقياس الزمن الازم من حركة الفقاعة الصابون المضغوطة بين تدرجين على خط المقياس مدرج من 0– 50 مللتر في حالة packed column و0–5 مللتر للأعمدة capillary column وهناك نوع تجاري يستخدم التحسس الكترونيا لقياس سرعة الجريان المبني على حركة الفقاعة كما في الشكل (18– 4). واختيار الغاز الخامل يعتمد على نوع الكاشف المستخدم ويجب ان تكون له المواصفات الاتية:

1. ذو نقاوة عالية تصل إلى 99.999% اي ان نسبة الشوائب لا تزيد عن 0.001%.
2. يلائم عمل الكاشف.
3. خامل لا يتفاعل مع مكونات النموذج أو مكونات العمود
4. في اغلب الاحيان تستخدم الغازات الرخيصة ان امكن كالنتروجين.
5. خالي من الاوكسجين والرطوبة.



شكل (19- 3) مقياس الجريان اليدوي شكل (18- 4) مقياس الجريان الالكتروني

<u>الاجزاء الداخلية لجهاز كروماتوغرافيا الغاز :</u>

تتضمن ما يلي:

1- الحاقن injector

2- العمود column

3- الكاشف doctor

- إدخال أو حقن النموذج

يمكن حقن كمية صغيرة من العينة السائلة مباشرة إلى عمود الفصل خلال سدادة رقيقة من مطاط السيليكون الذي يلتئم تلقائياً وذلك بإستخدام حقنة تنتهي بإبرة مدببة. وفي بعض الأجهزة تحقن العينة في حجرة صغيرة مغلقة موجودة قبل بداية عمود الفصل مباشرة ومحفوظة عند درجة حرارة تكفي لتبخير العينة. ويقوم الغاز الحامل بنقل بخار العينة بسرعة من هذه الحجرة إلى عمود الفصل وتسمى هذه الطريقة التبخير الشراري (flash vaporization). أما العينات الغازية فتدخل إلى عمود الفصل بواسطة حقنة خاصة للغازات (gas- syringe) أو صمام خاص مكون من عدة صنابير.

يجب إدخال النموذج بأقل فترة زمنية وبأصغر حجم ممكن ويجب تسخين النموذج لتسريع تبخرة إذا كان سائلا، أما النماذج الصلبة فيجب أن تذاب في مذيب مناسب ثم تحقن داخل الجهاز. منطقة القن تحتاج الحرارة حيث تساعد هذه الحرارة على تبخير النموذج السائل المراد تحليله والتي تعتمد على درجة تبخير المكونات الموجودة في النموذج المراد تحليله.

العينة تدخل في العمود على شكل سائل أو محلول في معظم الحالات تستخدم مذيبات عضوية وحالات اخرى تكون العينة مائية. توجد طريقتين لعملية الحقن:

1- النوع الاول: حاقن للأعمدة المعبأة injector for packed column

2- النوع الثاني: الحاقن للأعمدة الشعرية injector modified for capillary column

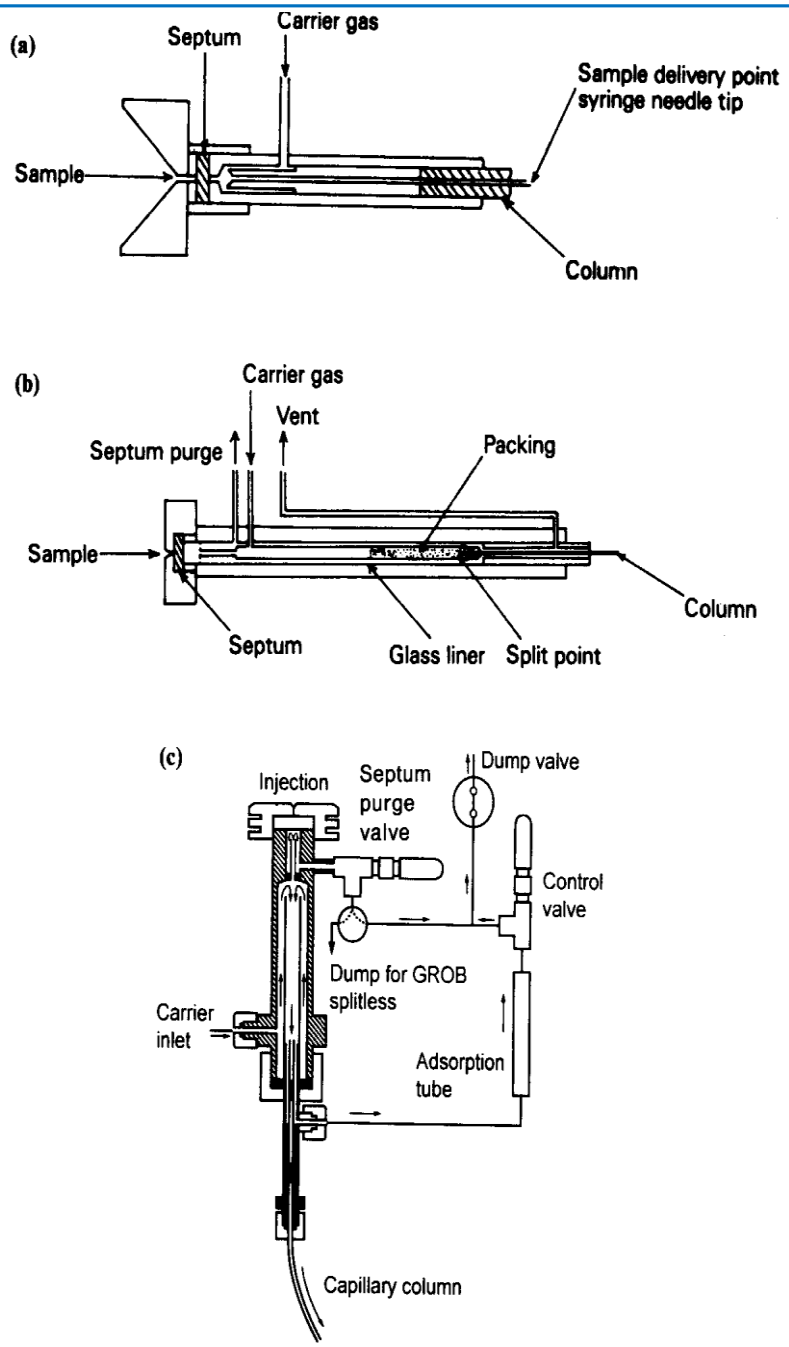
النوع الاول يدعى flash vaporized injector اي في لحظة ادخال العينة تتبخر مكونات العينة من خلال حجرة التسخين heating block يمر فيه تيار كهربائي بحيث يرفع درجة الحرارة إلى درجة حرارة كافية لحدوث التبخر الفجائي. ان الأعمدة الشعيرية تحتوي على مادة قليلة من الطور الثابت مقارنة بالعمود المعبأ ستكون اقل بكثير 1000/1 من حجم العمود الذي يحتوي على الطور الثابت لذلك يجب ان يدخل إلى العمود الشعيري كمية صغيرة جدا والكمية التي نتحدث عنها هي الكمية المطلقة absolute amount وهذه القيمة تؤثر على overloading. قد نحصل على نتائج جيدة من حيث التطابقية والانحراف المعياري في الأعمدة المعبأ باستخدام محقنة مناسبة ولكن هذا قد لا يحصل في الأعمدة الشعيرية لذلك يمكن ان نحصل على حجم قليل باستخدام الحاقن المجزئ splitter injector وفي هذه التقنية فان جزء صغير من السائل المأخوذ من السرنجة هو الذي يمر إلى العمود اما الجزيء الباقي فيذهب إلى الخارج waste. وهناك انواع من الحاقنات منها:

1- لحقن المباشر direct injection

2- الحقن المقسم splitter injection

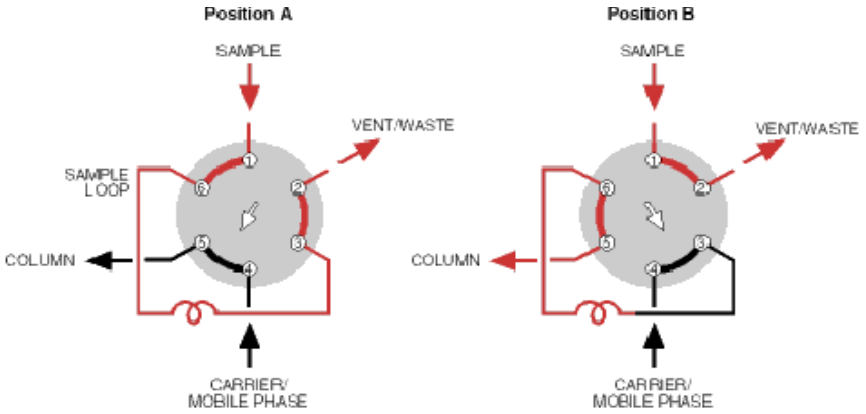
3- الحاقن بدون مقسم splitteless injection

4- الحقن على طول العمود on column injection اذا اجري العمل حسب المشار له اعلاه فان المدى المناسب لحجم المادة المحقونة تعتمد على قطر العمود وليس على متغيرات الحقن. وهناك انواع من منظومات الحقن injectors كما في الشكل(18-)5.



شكل (5-19) منظومة الحقن a.) GC b.) للعمود المعبأ مع مقسم النموذج c.) للعمود الشعري.

أما العينات الغازية فتدخل إلى عمود الفصل بواسطة محقنة خاصة للغازات (gas-syringe) أو صمام خاص مكون من عدة صنابير.



شكل (19- 6) نقطة حقن نموذج غازي

العمود في جهاز الـGC

يعتبر عمود الفصل القلب النابض في أي جهاز للفصل الكروماتوغرافي اذ تتم عليه عملية الفصل ذاتها. ويصنع عمود الفصل المستخدم للغازات عادة من مادة الحديد المقاوم للصدأ (Stainless steel) أو من الزجاج أو النحاس. ويتراوح نصف قطر العمود ما بين 0.06 إلى 0.25 بوصة كما يتراوح طولة من عدة سنتيمترات إلى مئات الأمتار. ان المهم في العمود ان يكون مسخنا وتحت درجة حرارة عالية خلال العمل وذلك لمنع تكدس المكونات داخل العمود. يوجد نوعين من الاطوار لمستقرة الفصل الكروماتوغرافي هي كروماتوغرافي غاز صلب GSC وكروماتوغرافي غاز سائل GLC. وهكذا فانه يجب التمييز بين كروماتوغرافيا الامتزاز adsorption chromatography وكروماتوغرافيا التوزيع partition chromatography. ان اكثر الطرق المستخدمة في الكروماتوغرافيا الغاز تستخدم طورا مستقرا سائلا. ففي GLC يكون الطور الثابت عبارة عن سائل له لزوجة عالية ودرجة انصهار متدنية ويكون سائلا عند درجة حرارة الغرفة وقد يتجمد تحت هذه الدرجة. وتوضع طبقة رقيقة من هذه المادة حول حبيبات أو مسحوق كمواد ساندة support material. ان القطر النموذجي لهذه المادة يتراوح 125 إلى 250 مايكرون اذ يقابل من 60- 100 للمساحيق.

الساند الصلب أو المادة الصلبة المساندة solid support

يحمل الوسط الساكن السائل على مادة صلبة تسمى المادة المساندة ويجب أن تكون هذه المادة خاملة وسهلة الملء في العمود ومساحة سطوح مسامها كبيرة. وتستخدم مواد السيلكات بكثرة لهذا الغرض ومنها Firebrick، Calcined diatomaceous earth. وتتداول هذه المواد تحت أسماء تجارية عديدة مثل Celite, Chromosorb, Stermachol وتعامل هذه المواد معاملة كيميائية خاصة قبل إستخدامها وذلك للتخلص من بعض الشوائب الفلزية الموجودة بها وكذلك بعض مجموعات السيلانول المستقطبة (Si–OH) والتي ينتج عن وجودها بعض الإدمصاصات التي تسبب تذيل الكروماتوجرام الناتج وكذلك يمكن لمجموعة السيلانول أن تحفز (Catalize) على تكسير (decomposition) بعض المركبات المفصولة وقد تسبب أيضاً التعديل البنائي (rearrangment) للبعض الأخر. وتشمل المعاملة الكيميائية للمادة المساندة إستخدام الأحماض أو القواعد لغسلها من الشوائب الفلزية وتحويل مجموعات السيلانول إلى ميثيل داي سيلازون hexamethyldisilazone غير المستقطبة.

وتستخدم أيضاً حبيبات من الزجاج المعامل (silanized glass) أو جسيمات من التفلون المكون من بوليمر لرباعي فلور الإيثيلين (PTFE) كمواد مساندة للوسط السائل الساكن. ويجب أن تختار حبيبات المادة الصلبة بحيث تكون حجومها مناسبة اذ ان كفاءة عملية الفصل تعتمد إلى حد كبير على حجم الحبيبات المستخدمة.

إن الساند الصلب يجب أن يمتلك الصفات الاتية:

1- يكون حجم الحبيبات صغير حيث تزيد كفاءة العمود كلما قل حجم الحبيبات.
2- تكون الحبيبات متجانسة اي لا يكون حبيبات صغيرة واخرى كبيرة.
3- تكون الحبيبات ذات شكل كروي.
4- لا تتكسر بسهولة اي ثابتة ميكانيكيا.
5- لها مساحة سطح خارجي لا تقل عن $1m^2/g$
6- امكانية تبلل أو استسقاء الحبيبات بالطور المستقر impregnation اي دخول مادة داخل مادة اخرى.
7- مواد خاملة.

الوسط الساكن: هناك العديد من السوائل التي يمكن أن تستخدم كوسط ساكن في هذه الطرق الكروماتوجرافية، ويتم الإختيار بناء على طبيعة العينات المطلوب فصلها. وعموماً

يجب أن يكون الوسط الساكن السائل غير قابل للتبخر وثابت عند درجات الحرارة المستخدمة. وكذلك يجب أن لاينزع (bleed) من حبيبات المادة الصلبة المساندة المحمل عليها أثناء تحرك الغاز. وتوصف السوائل المستخدمة كاوساط ساكنة بأنها مستقطبة أو غير مستقطبة تبعاً لتركيبها الكيميائي وقابليتها للفصل. وتشمل الأنواع غير المستقطبة الهيدروكربونات وزيت السيليكون (Silicone oil) والشحوم (greases). أما الأنواع المستقطبة فهي كثيرة وتغطي مجالاً كبيراً من درجات الإستقطاب وتشمل الأسترات المتبلمرة ذات الاوزان الجزيئية العالية، والأثيرات، والشموع Carbowaxes والأمينات... إلخ.

وكقاعدة عامة فإن الوسط الساكن المناسب للعينة هو ذلك الوسط المشابه لها في الخواص، فمثلاً أفضل وسط ساكن لفصل المركبات الهيدروكربونية المشبعة هو نوع من أنواع الهيدروكربونات غير المستقطبة مثل Apiezon L greaze or Silicone oil DC 200. وينتج غالباً تذيل لقمة الكروماتوجرام إذا ما كان الإختلاف كبيراً بين خواص العينة وخواص الوسط الساكن المختار، اذ تكون العلاقة بين تركيز العينة في الوسط الساكن والوسط المتحرك علاقة غير خطية. وعندما يراد فصل عينة غير معروفة فإن إختيار الوسط الساكن يتم بطريقة التجربة. ويمكن جعل الوسط الساكن أكثر إختيارية في الفصل بإضافة بعض المركبات التي لها ألفة كبيرة لأحد مكونات العينة. فعلى سبيل المثال عند إضافة نترات الفضة إلى سائل مستقطب فانه يصبح أكثر إعاقة للاوليفينات وذلك بسبب تكوين متراكبات ضعيفة معها.

كما تؤثر كمية السائل المحملة على المادة الصلبة وكمية العينة المستخدمة تأثيراً فعالاً في كفاءة عملية الفصل. فالتحميل العالي للوسط الساكن (16- 30% بالوزن) ينتج عنة طبقة سميكة من السائل. والتحميل المناسب يتراوح ما بين 1- 10% وبإستخدام وسط ساكن أقل من 1% ينتج عنة أعمدة ذات سعات منخفضة نسبياً وهو ما يسبب سرعة الوصول إلى مافوق طاقة العمود (overloading) وما يصاحبها من مشاكل. ويجب التنوية بأن التحميل المنخفض بالوسط الساكن يسمح بإتمام الفصل عند درجات الحرارة المنخفضة نسبياً وهوما يعتبر ذو أهمية خاصة في فصل المركبات التي تتأثر بالحرارة ويجب التحذير من انه عندما تكون طبقة السائل المحملة على المادة الصلبة رقيقة أكثر من اللازم فسوف تسمح للمادة الصلبة نفسها بإدمصاص بعض المذابات مما يسبب تذيل القمم الكروماتوجرافية الناتجة.

والفصل يعتمد على معامل التوزيع بين غاز الحامل والطور الثابت. اما بالنسبة GSC فيكون الطور الثابت هو مادة ثابتة مثل السليكا جيل أو الناخل الجزيئية والفصل يكون عن طريق القطبية للطور الثابت حيث يحصل تجاذب بين العينة والطور الثابت.

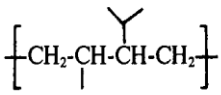
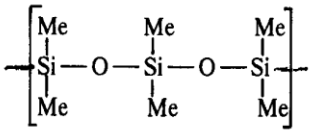
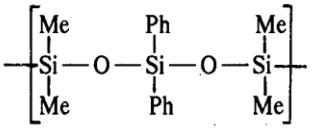
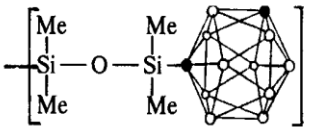
ان اختيار الطور المستقر يعتمد كليا على محاولة التجريب المباشر وملاحظة النتيجة بين الخطا والصواب (Trial and error) مع الاخذ بنظر الاعتبار القطبية للمزيج.

- **مواصفات الطور المستقر السائل:**

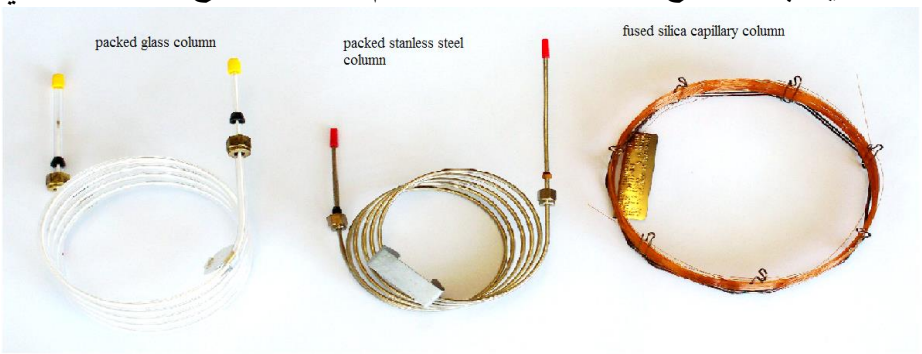
1- يجب أن يكون غير قابل للتطاير.
2- يجب أن يكون ثابت حراريا.
3- يجب أن يحصل على قيم Kd ملائمة.
4- توفره بسهولة وذات وزن جزيئي معلوم.
5- خاملة تجاه المواد المراد فصلة

وتوجد اطوار مستقرة اساسية تكون مناسبة للأعمدة المعباة والشعرية كما في الجدول:

جدول (19- 1) بعض الاطوار المستقرة الشائعة

Stationary phase	Material	Structure
Apiezon L	Branched-chain alkane grease, mp 43°C	
OV101	Dimethyl silicone	
OV3	5% Phenyldimethylsilicone	
OV17	50% Phenyldimethylsilicone	
Dexil 300	Carborane dimethyl silicone	 ●=C, carbon, ○ = borane, B–H
Carbowax 20M	Polyethylene glycol	$HO-[-CH_2-CH_2-O-]_n-H$

ان اطوال الأعمدة التي تصل إلى 300 قدم هي ليس شيء غير طبيعي وكلما كان العمود طويلا وفيه الطور المستقر معبأ بالرص يسمى هذا العمود packed column كلما كان ضغط الغاز اكبر لكي يحافظ على سيريان الغاز الناقل. ان طول 20 قدم هو اعلى طول للعمود المعبأ. وهناك عمود شائع اخر هو العمود الشعري المفتوح open tubular capillary وبدلا من استخدام مادة معباة صلبة تعبأ بالرص لكي تحمل الطور المستقر يكون معمولا ليكون له قدرة امتزازيه داخل جدران الانبوبة الشعرية(0.1- 0.53mm) وهكذا فان الانبوبة الشعرية تبقى مفتوحة لسريان الغاز داخلها وهذا التصميم سيعطي مقاومة قليلة للغاز الجاري وبذلك يصبح العمود طولة مئات الاقدام بدون ان نحتاج إلى ضغط عالي.



شكل (19- 7) أعمدة كروماتوغرافيا الغاز

- مميزات الأعمدة المعبأة:

1- معبأة بمادة صلبة.

2- تصنع من حديد مقاوم للصدا أو من النحاس أو من الزجاج.

3- القطر الداخلي= 1.6، 3.2، 6.4 mm

4- الطول 1- 6 m الحيز لا يتسع لا اكثر من هذا الطول.

5- يملئ بمواد ساندة محاطة بطور مستقر سائل في GLC اما في GSC يملئ بمادة صلبة مازة مثل السيلكاجيل.

مميزات الأعمدة الشعرية:

1- هي معباة أو غير معباة (open tube).

3- مصنوعة من الزجاج أو الكوارتز.

4- القطر الداخلي= 0.25 - 0.75 mm

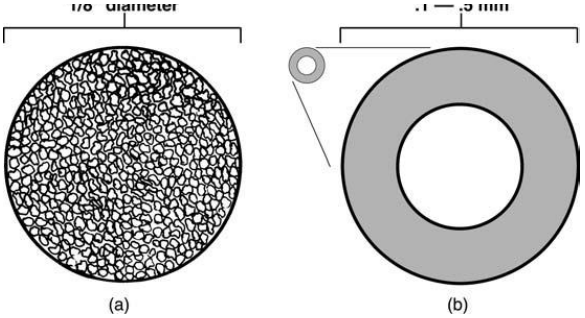
5- طولها= 10، 25، 50، 75، 100m.

6- يوجد نوعين منها:

ا- wall coated open tubular capillary (WCOT)

ب- support SCOT (coated open tubular)

ومع الوقت اصبحت الأعمدة تصنع من مواد اخرى مثل fused silica open tubular (FSOT) وهي سليكا منقاه خاصة من الفلزات الثقيلة التي تعطي قطبية عالية. ويطلى العمود من الخارج بمادة بلاستيكية تسمى polyimide وهي عبارة عن بوليمر يعطي العمود ليونة عالية حتى لا ينكسر الزجاج عند وصل العمود بالكاشف.



(a) a packed column and (b) an open- tubular capillary column

شكل (19- 8) الجزء الداخلي للعمود a- عمود معبأ b- عمود شعري

وهناك أعمدة اخرى تسمى بالأعمدة التحضيرية preparative وتستخدم هذه الأعمدة عندما يكون الغرض من التجربة هو لتحضير نموذج نقي من مادة معينة (من مزيج توجد فيه المادة) وهذا ما يستخدم فيه GC في بعض المختبرات. ان طريقة العمل هذه تتطلب ان المادة المراد فصلها تعاني تكثيف داخل مكان بارد كمصيدة عندما تمر من الكشاف وتتابع قمتها إلى المسجل. ان طريقة GC لا تكون مناسبة لهذا النوع من التحضير لان كمية المادة المحقونة صغيرة جدا لذلك نستخدم أعمدة ذات اقطار كبيرة وكواشف مناسبة مثل كاشف التوصيل الحراري.

الكواشف Detectors

إن الغرض من الكشاف هو تقدير المكونات المفصولة في الغاز الحامل ويجب أن يكون الكشاف المستخدم حساساً لأي تغير في تركيب الغاز. ومن الناحية المثالية يجب أن يتوفر في الكشاف الخواص الأتية:

أ. سرعة الإستجابة لكل تغير في تركيزات المذابات المختلفة.

ب. إرتفاع حساسيته وثباتها أثناء عملية الفصل.

ج. أن تكون إستجابته للتغير في التركيز عبارة عن علاقة خطية.

ومعظم الكشافات المستخدمة تعتمد على قياس التغير في أحد الخواص الفيزيائية للغاز الخارج من عمود الفصل مثل التوصيل الحراري (thermal conductivity)، الكثافة (density)، التأين في اللهب (flame ionization)، والتوصيل الكهربائي (electrolytic conductivity) والتأين بالأشعة السينية (x- ray ionization) في وجود المكونات المختلفة للعينة. ويمكن توصيل الكشاف بمسجل تسجيل القمم الكروماتوجرافية الناتجة مباشرة. وبالرغم من وجود العديد من الكشافات المختلفة الصالحة للإستعمال في أجهزة الفصل الكروماتوغرافي للغازات إلا أن أكثر الكشافات إستخداماً هي التي تعتمد على قياس التوصيل الحراري وعلى التأين باللهب والأسر الألكتروني (electron capture) وربما على كثافة الغاز. وترتبط بالكاشف الاجزاء الاتية:

1. مضخم: يقيس الاشارة الكهربائية الناتجة من التحسس بالنموذج ويعمل تكبير للاشارة amplification electrometers

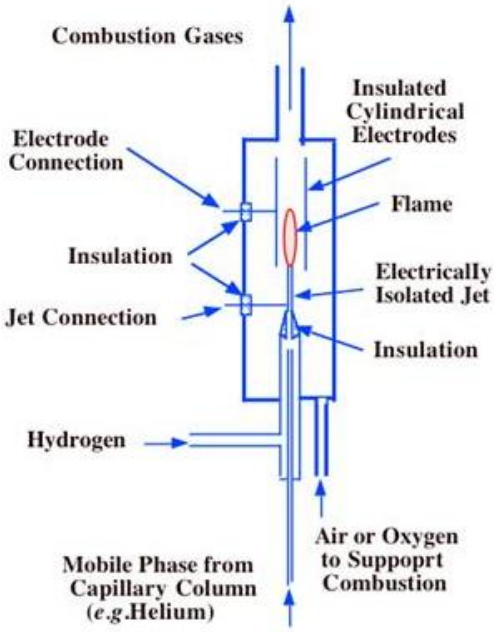
2. مسجل reading device معظم الأجهزة الحديثة يتم استلام الاشارة من خلال جهاز كومبيوتر ليتم رسم الحزم واخراج النتائج على شاشة ضمن هيكلية الجهاز أو ضمن الملحقات بالاضافة إلى جهاز لطبع النتائج.

شكل (19- 9) منظر خارجي لجهاز كروماتوعرافيا الغاز

انواع الكواشف في كروماتوعرافيا الغاز

إن الكشف الذي يتم بعد العمود يجب أن يتحسس بطريقة معينة ويجب أن يتحسس الكاشف الكميات الضئيلة من النموذج ويهمل الكميات الكبيرة من الغاز الناقل لذلك من خواص الكاشف الأساسية أن يكون سريع الاستجابة وذات حساسية عالية ومن أنواعها:

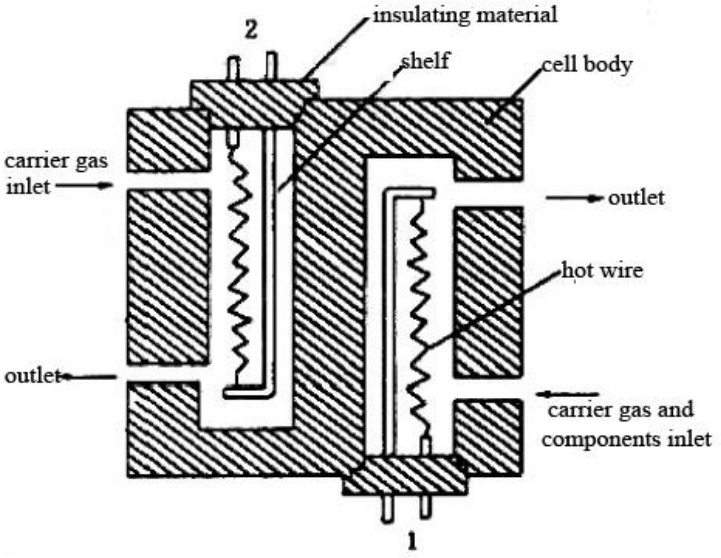
1- كاشف شعلة التأين: FID يعتمد على مدى تأين المكونات عند دخولها الشعلة حيث لتكوين الشعلة يجب أن يكون الهيدروجين والأوكسجين والغاز الناقل سوية حيث تصل درجة حرارة الشعلة إلى 120 وتسمى بالبلازما وفي البداية لا توجد استجابة ثم بعد ذلك تحقن المادة ويحصل الفصل فيتكون نتيجة لذلك ايونات فستكون الشعلة كأنما الكترود وفوقها الجامع ومن ثم ستتطلب تيار كهربائي بحدود 0.0001 أمبير ومن ثم يكبر ويعطي القمة. ان كشاف FID يكشف تراكيز صغيرة لكنة ليس له شمولية ويقوم بتحطيم النموذج (حرقة) وهو يقوم بكشف المواد العضوية التي تحترق باللهب الهيدروجيني ولهذه الاسباب فان هذا الكشاف لا يمكن استخدامه في كروماتوغرافيا التحضير كما لا يمكن استخدامه مع المواد اللاعضوية مثل CO_2،H_2O. لكنه ما يزال يعتبر كشاف شائع الحساسية العالية إلى تراكيز صغيرة.



شكل (19- 10) رسم تخطيطي لكاشف شعلة التأين

2- كاشف التوصيل الحراري: TCD مبني على أساس إن الجسم الساخن مقدار ما يفقد من الحرارة يعتمد على تركيب الغاز المحيط به. وهو عبارة عن سبيكة بها حفرتين متناظرة وفي كل حفرة يوجد سلك من نفس النوع.

قبل فتح الجهاز يمرر الغاز الناقل فيدخل إلى الحفرة الاولى ويمرر خلال العمود ويحقن النموذج ويمرر في الحفرة الثانية. وعند حقن النموذج سيذهب إلى العمود حيث يحصل فصل له وبعدها سيذهب إلى الحفرة الاولى وهنا سيحدث اختلاف في المقاومة وعندها سيعطي إشارة في قنطرة وينستن. ان تصميم TCD اصبح شائعا ا ذ يوجد فيه خويط منفرد عندما يمر الغاز لوحدة (الهيليوم) عليه من العمود ولا حاجة لا استخدام خويطين. ان كاشف التوصيل الحراري هو كشاف شامل (يكشف اي شيء) ولايحطم النموذج لذلك يستخدم فالكروماتوغرافيا التحضيرية prperative GC ولكن عيبه انه لا يستطيع ان يكشف تراكيز صغيرة من المادة المراد تحليلها (حساسيتة قليلة)

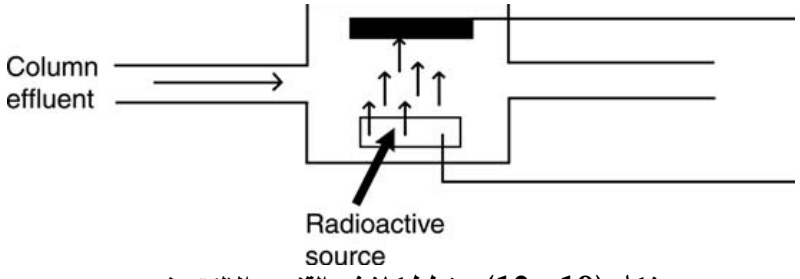


Structure of Thermal Conductivity Detector

شكل (19- 11) رسم تخطيطي لكاشف التوصيل الحراري

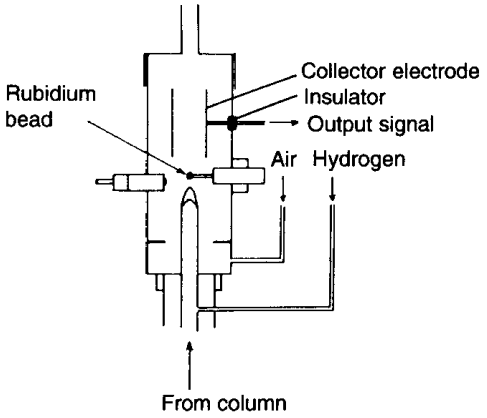
3- كشاف القنص الالكتروني electron capture detector: يستلزم استخدام هذا الكشاف في بعض التطبيقات البئية والحياتية الطبية ويرمز له ECD. وهذا الكشاف يكون مفيد بشكل خاص للجزيئات الهيدروكربونية المهلجنة اذ ان هذه المركبات الوحيدة التي تحتاج إلى تحليل بحساسية مقبولة. وهكذا فان هذا الكشاف وجد طريقة إلى تحليل بقايا

المبيدات المهلجنة والتي تترسب في بعض النماذج البيئية والحياتية الطبية. ان هذا الكشاف يستخدم فيه التايين وكأنه كشاف التاين باللهب. لكنة يستخدم بشكل خاص انبعاثات أشعة بيتا التي تنطلق من مصدر يبعث دقائق بيتا مثل عنصر النيكل المشع $Ni-63$ اذ ان هذه الأشعة المتولدة تسبب تاين جزيئات الغاز الناقل فعندما تصطدم به تولد الكترونات وهذه الالكترونات هي التي تولد التيار الكهربائي. فاذا كان لدينا مبيد تم فصلة ودخل الكشاف فان الالكترونات الناتجة من تاين الغاز الناقل سيتم اصطيادها. وعندما يتم قنصها فانها ستغير حركة التيار الكهربائي في الدائرة الخارجية للكشاف. ان هذا التغيير هو المصدر للاشارة الكهربائية التي ستكبر وترسل إلى المسجل. من محاسن هذا الكشاف فانه يكشف تراكيز صغيرة جدا من المبيدات ولكنة يكشف مركبات منتخبة مثل الهيدروكربونية المهلجنة ولا يحطم النموذج لذلك يستخدم في عمل فالكروماتوغرافيا التحضيرية.



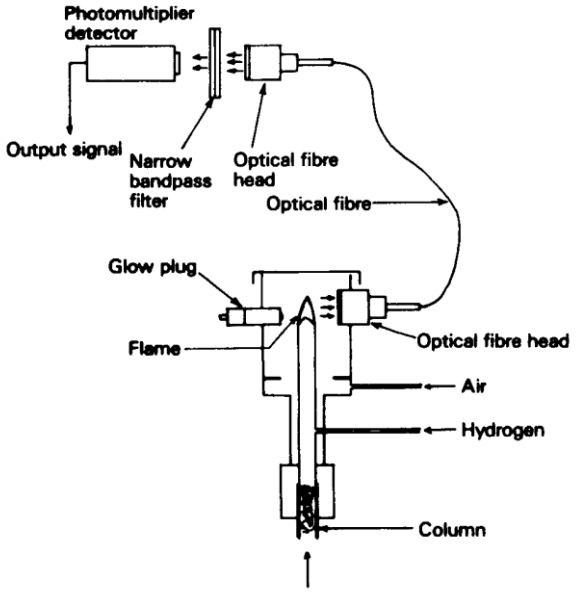
شكل (19- 12) مخطط كاشف القنص الالكتروني

4- **كشاف النيتروجين الفسفوري nitrogen- phosphorus detector:** ان كشاف النيتروجين الفسفوري NPD يعرف ايضا بالكشاف الحراري الايوني Thermo Ionic D ويكون مفيدا للكشف عن المبيدات التي تحتوي على الفسفور والنتروجين وكذلك المبيدات الفوسفاتية العضوية ومبيدات الكاربامات Carbamat. اما التصميم يمثل تغيير طفيف على تصميم كشاف FID. اي في هذا الكشاف لدينا كشاف FID ولكن مضاف له خرزة BEED من احد الاملاح القلوية موجودة فوق اللهب. فعندما ياتي غاز الهيدروجين كغاز ناقل ويختلط مع الهواء وكون اقل شدة مما هو في FID وهذه الوضعية ستساعد على تجزئة المركبات الفسفورية بشكل تدريجي. ان هذه التغييرات تؤدي بزيادة غير متوقعة في كل من الانتقائية وقياس تراكيز صغيرة من المبيدات.



شكل (19- 13) كشاف النيتروجين الفسفوري

5- **كشاف اللهبي الضوئي flame photometric detector**: ان هذا الكشاف يكون متخصص للمركبات العضوية التي تحتوي على الكبريت والفسفور أو ما يسمى بالقياس الفوتوني اللهبي FPD. ان هذا الكشاف تتم فيه رش مادة المراد تحليلها إلى داخل اللهب وذلك بواسطة انبوب مضاعف فوتوني photomultiplier tube ان الاشارة التي يسجلها المسجل تتناسب طرديا مع شدة الأشعة المتولدة في الانبوب الفوتوني.



شكل (19- 14) كشاف اللهبي الضوئي

ان من محاسن هذا المكشاف هوانه انتقائي ويكشف ايضا تراكيز صغيرة جدا. اما المساوئ فتشمل المشاكل المصاحبة وللسيطرة على ظروف اللهب ومن هذه الظروف التحكم بسرعة

سيان الغاز ودرجة حرارة اللهب. ويختص في المركبات الكبريتية التي تعطي الفصيل S_2 ومركبات الفسفور التي تعطي HPO كما في المعادلات ادناه.

$$R-P + xO_2 \rightarrow HPO^*$$

$$2R-S + (x+2)O_2 \rightarrow xCO_2 + 2SO_2 \rightarrow 4H_2O + S_2 \rightarrow S_2^*$$

$$\text{detector signal} \propto [HPO] \quad \text{or} \quad \propto [S]^x \quad \text{where } x = 1.84-2.0$$

6- **كشاف التوصيل الالكتروليتي electrolyte conductrial detector**: ويدعى هذا الكشاف بكشاف هول Hall ويقوم بتحويل المكونات الغازية المنفصلة من العمود إلى ايونات في المحلول السائل ومن ثم يقيس توصيلتها الالكتروليتية عندما تكون على شكل محلول وبواسطة خلية توصيلية. اما المذيب فيقوم بالسريان بشكل مستمر خلال الخلية وهكذا فان المحلول الموصل في الخلية يقاس في لحظة معينة بينما تقاس التوصيلية ويسجل القمة قبل ان ياتي اليه المذيب الجديد. ان كشاف هول له قدرة ممتازة لكشف تراكيز صغيرة وذات انتقائية عالية اذ يعطي قمة للمركبات أو المكونات التي تولد ايونات في داخل وعاء التفاعل ولكنة كشاف محطم للمادة.

مشاكل التحليل troubles shooting

ان المشاكل التي تظهر خلال العمل في GC تكون متعلقة بالرسم الكرماتوغرامي وسوف نوضح هذه المشاكل:

1- اختفاء حجم القمة diminished peak size: وتتعلق بالحساسية وقد يكون سببها الحقن أو بالكشاف يعطي اشارة صغيرة أو حصول تسرب للعينة من احد نقاط الالتقاء.

2- اشكال القمم غير متماثلة unsymmetrical peak: عندما تظهر القمم وهي بحالة انقسام تسمى tailing اي انها غير متماثلة وسببه عدم اتقان الحقن مما يجعل المركبات قد تتفكك في الحلول عند الحقن أو حدوث تلوث في منطقة الحقن.

3- زمن الاحتجاز المتغير altered retention time: وسببه التغيرات التي تحصل في معدل سرعة جريان الغاز الناقل أو تغير درجة حرارة العمود. والسبب يرجع إلى حصول تسرب في النظام أو خطأ في منظومة الحرارة أو عملية التحميل للعمود.

4- انحراف خط الاساس base line drift: وهذا يحث عندما يتم استبدال العمود بعمود جديد ويتم معالجة هذه الحالة باعطاء العمود الجديد فترة زمنية قد تكون كاملة وفي درجة حرارة مناسبة.

5- تقطع خط الاساس baseline perturbation: ان هذا التذبذب في خط الاساس قد يكون سببه حوث تكثف في خط السريان مما يجعل الغاز الناقل أو الهيدروجين في كشاف اللب ان يعطي نبضات اضافية أو وجود فقاعة في الغاز الخارج إلى الكشاف.

6- ظهور قمم غير متوقعة: وهذه تنشا من مكونات الحقن وتتحرك ببطئء نحو العمود وتحدث حالة تلوث ام من الكواشف المستخدمة أو المحاليل القياسية. ومعالجة مثل هذه الحالة يشمل التحكم في درجة الحرارة واستخدام مواد نقية.

- التحليل الوصفي- بارامترات الاحتجاز

يمكن استخدام تقنية كرموتوغرافيا الغاز في التحليل الوصفي للمواد المختلفة وذلك بالاعتماد على مجموعة من المعلمات الاتية:

معامل التوزيع: وهو ثابت توازن خاص بالمادة والطور السائل الثابت بدرجة حرارة معينة لذا يمكن أن يكون وسيلة للتعرف على المواد.

حجم الاحتجاز: حجم الغاز الناقل الكافي لخروج المادة خلال عمود كروموتوغرافي في ظروف معينة ويعتبر من إحدى ثوابت المادة ويمكن حسابة من قراءة الكروموتوكرام ومن العلاقة الاتي:

$$VR=Tr \times fc$$
$$VR^*=(tr- tm)\times Fc$$

وبإدخال معامل الانضغاط واستخدامة لحساب حجم الاحتجاز الصافي من العلاقة الاتية:

$$Vn=VR. J$$
$$J=3/2\ (Pi/Po)^2- 1/(Pi/Po)^3- 1$$

- **حجم الاحتجاز النوعي:** هو حجم الاحتجاز لكل غرم واحد من الطور السائل ويعبر عنة بالعلاقة الاتية:

$$Vg=Vn/Wl = dc- da/cs \times Fc \times J \times 273/Tc \times 1/Wl$$

- في درجة الصفر المئوي يختزل الحد T/273.

الاحتجاز النسبي: هو زمن احتجاز المادة إلى زمن احتجاز قياسي.

$$\acute{\alpha}= tr - ta/\ tr_2 - ta = Vr_1 - Va/\ Vr_2 - Va = K_1/K_2$$

نظام معدل الاحتجاز: ويقصد به زمن احتجاز مادة معينة بالنسبة إلى البارافينات شرط أن يقع زمن احتجاز المادة المجهولة بين زمن احتجاز مادتين بارافينيتين.

$$Ix = 100 \times ((\log (tr)_x - \log (tr)_n/ \log (tr)_{n+1} - \log (tr)_n)) + 100\ n$$

إذ إن معامل الاحتجاز يستخدم لمعرفة مدى قطبية الطور الثابت وانتقائيتة ويستخدم أيضا لتشخيص المادة.

اسئلة الفصل التاسع عشر

1- صف الحاقن الذي يستخدم في العمود المعبأ في تقنية كروممتوغرافيا الغاز مستعينا بالرسم.

2- ناقش في كواشف كروماتوغرافيا الغاز:

a- حدود الكشف

b- الخطية

c- الحساسية.

3- صف باختصار وبخطوات تقنية تحميل السائل في كروماتوغرافيا غاز- صلب.

4- المبادئ الاساسية لكاشف التاين اللهبي مع الرسم.

5- اي نوع من كواشف كروماتوغرافيا الغاز تتصف بما يلي:

a- يتطلب استخدام غاز الهيروجين

b- تحليل المبيدات الحشرية.

c- يستخدم غاز له قابلية التوصيل الحراري.

d- يكون ذو حساسية اقل.

e- يكون خاص لتحليل المركبات العضوية التي تحتوي على الكبريت والفسفور.

الفصل العشرون
كروماتوغرافيا السائل liquid chromatography

مقدمة:

كروماتوغرافيا السائل هو نوع من انواع الكروماتوغرافيا التي يكون فيها الطور المتحرك سائل يمكن السيطرة عليه ليتحرك خلال عمود يحتوي على طور مستقر. وان العالم twesst هو اول من تعامل مع LC باستخدام Na_2CO_3 كطور مستقر وتم فصل اصباغ النباتات على العمود على شكل طبقات ملونة وتسمى هذه الطريقة بـ chromatography (chromata لون) (graphy رسم).

في LC يكون الطور المتحرك سائلا والطور المستقر اما ان يكون صلبا (LSC) أو سائلا (LLC). ومن اكثر المواد استخداما في الطور المستقر سيليكاجيل أو الالومينا والطور المستقر السائل عبارة عن ساند عليه الطور المستقر السائل ويكون السائل المستخدم متداخل أو متغلغل في المادة الساندة (immiscible).

الفرق بين LSC وLLC اصبح هائل بعد تطوير طرائق ربط الطور السائل على الساند support ربطا كيمياويا وهو ما يسمى bonded phase اذ تربط مجموعات الموجودة على السيلكا بمجموعات اخرى.

من اسباب عدم انتشار LSC هو عدم ثبات KD نتيجة امتزاز جزيء من العينة على العمود مما يجعل النتائج غير ثابتة والقمم غير متناظرة أو يصل فيها تذييل وهذا يمكن ان يحصل LLC عندما يحصل تعري لبعض حبيبات الساند.

هناك فرق اساسي بين LC وGC هو عامل الانتشار diffusion العالي للغازات مقارنة مع السوائل لذلك يجب ان يكون تدفق السائل متدني جدا في LC حتى يمنع انتقال الكتلة عن طريق الانتشار وهذا ما يجعل معدل التدفق الامثل يكون صغير جدا في LC مقارنة في حالة GC. اضافة إلى ان هنالك فرق اساسي هو الطور المتحرك يمكن ان يتفاعل interaction مع مكونات العينة وبالاتي يكون احد المتغيرات الثلاثة التي تتحكم في عملية الفصل اضافة إلى العينة والطور المستقر. ويتميز LC امكانية استخدام الماء كطور مستقر سائل، اذ تمتص السيلكاجيل تصل النسبة إلى 50% وعندما الماء كطور مستقر نستخدم طور متحرك غير قطبي مثل الهيكسان. وباستخدام التاصر الكيميائي يمكن ان نحصل على طور ساكن عكسي reversed stationary phase (RP) مثل (C_{18}) الذي يستخدم معة طور متحرك قطبي مثل ($MeOH+H_2O$).

ان جميع انواع الكروماتوغرافيا يمكن النظر اليها مهما اختلفت فان جميعها يمكن ان يطلق عليها LC فهناك مثلا كروماتوغرافيا التوزيع أو التجزئةpartition chromatography تسمى LLC وهناك نوع اخر هو كروماتوغرافيا الطور الترابطي bonded phase chromatography (BPC) وكروماتوغرافيا الامتزاز adsorption (chromatography LSC) وكروماتوغرافيا التبادل الايوني ion exchange chromatography (IEC)chromatography وكروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي size exclusion(SEC) وهذا الاخير يشمل نوعين هما كروماتوغرافيا التنافذ الجيلاتيني gel permeation chromatography (GPC) وكروماتوغرافيا الترشيح الجيلاتيني gel filtration chromatography (GFC) وكل هذه الانواع المذكورة اعلاه تستخدم في كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC. والجدول الاتي يبين انواع الكروماتوغرافي السائل.

جدول (20- 1) نوع وميكانيكية الكروماتوغرافي السائل.

Sorption mode	Mechanism of retention
Liquid–solid adsorption	Surface adsorption on basis of polarity.
Bonded phase	Either partitioning between phases or adsorption interactions between solute and polar bonded phase.
Ion exchange	Charge interaction between solute ions and counter ionophores on packing.
Ion pair	Partitioning of neutral ion pairs between phases.
Size exclusion	Filtering effect on the basis of hydrodynamic volume.
Chiral	Diastereoisomeric interactions between solute enantiomers and chiral sites within the packing.
Affinity	Bio-specific binding of solute to immobilised ligand.

كروموتوغرافيا التبادل الأيوني Ion- exchange Chromatography:

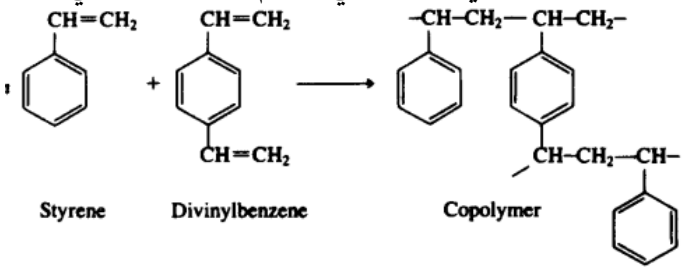
ويقصد به التحليل الكروماتوغرافي عن طريق تبادل الأيونات بين المادة المراد فصلها وبين أيونات السطح الذي يُحدث عملية التبادل وهي مادة كيميائية راتنجية ويمثل الطور الساكن والمبادلات الايونية هي مركبات لاعضوية معدنية أحياناً كالألومينات السيليكونية silico-aluminates (الزيوليت)، وعضوية في الغالب، أي راتنجات حاصلة بتفاعلات التبلمر polymerization أو التكاثف المتعدد polycondensation، ويكون بعضها كاتايون cationic مؤلفاً من نهايات كثيرة COO^- أو SO_3^{-2} مرتبطة بـH^+، ويكون بعضها الآخر انأيوني anionic مؤلفاً من زمرة NR_3 مرتبطة بهيدروكسيد OH^- فإذا وضعت هذه

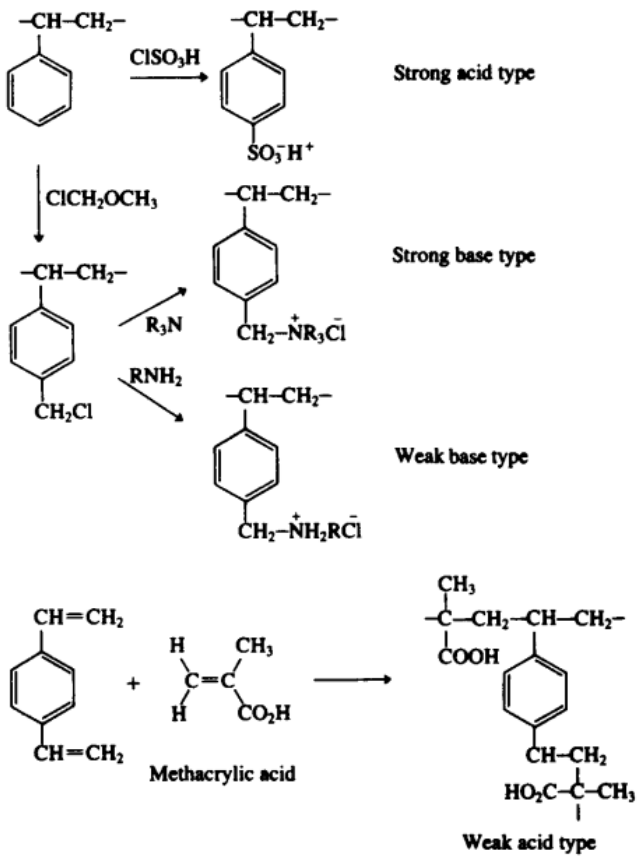
الراتنجات بتماس مع محلول كانت قادرة على أن تبادل ايونات H^+ أو OH^- بايونات من الإشارة نفسها ($^+$ أو $^-$) تأتي من المحلول. ويؤدي هذا التبادل الايوني إلى توازن مع المحلول، لذلك يمكن فصل أنواع من ايونات عدة وفق تقنية مماثلة لتقنية استشراب الامتزاز وهكذا تفصل الحوامض الأمينية الناشئة عن تحلل البروتينات الطبيعية بالماء hydrolysis على راتنج مبادل كاتأيوني cations كما تُفصَل مشتقات الحموض النووية على راتنج مبادل انأيوني anions. ان اساس فكرة تحلية المياه عن طريق استبدال الايونات التي تسبب عسر الماء (Ca^{2+} وMg^{2+}) بايون Na^+ كما في التفاعل الاتي:

$$2R^-Na^+ + Ca^{2+} = R_2Ca$$

هذه العملية عبارة عن عملية اتزان وبعد فترة تصبح جميع الاماكن على الطور الساكن(الراتنج) محتلة بايونات Ca^{2+} لذلك لابد من عمل تنشيط عن طريق اضافة كلوريد الصوديوم مركز إلى العمود وبذلك تحل ايونات الصوديم محل ايونات الكالسيوم حب قاعدة لية شاتلية.

على الرغم من امكانية استخدام المصادر الطبيعية لتحلية المياه ولكن استخدامها لاغراض التحليل غير مناسب بسبب تذبذبها لذلك تستخدم راتنجات صناعية لها تركيب ثابت ويمكن ان تحضر مبادلات انيونية anion exchange resin واخرى كاتونية action exchange resin وذلك عن طريق البلمرة في معظم الحالات كما في الامثلة الاتي:





Synthetic routes to ion exchange resins.

شكل (20- 1) تحضير راتنجات مختلفة

اذا كانت مجموعات الفينل تحمل مجموعة كاربوكسيل أو سلفونيل نحصل على مبادل ايوني كما في التفاعل. ان البوليمر الذي يعطي سلسلة مستقيمة خصائصها لذلك يفضل البولير الذي يمتلك ترابط crosslinking فاذا اضيف داي فنيل بنزين إلى الستايرين نحصل على بوليمر يمتلك هذه الخاصية وذات خواص جيدة منها:

1 – ثابت ميكانيكيا ولا ينكسر العمود عند تعبئته بالمبادل الايوني.

2- يمتلك أوطيء خاصية من الانتفاخ lower swelling وعند اضافة الطور المتحرك نعمل له swelling خارج العمود.

كما يمكن تحضير مبادل ايوني قوي ومبادل ايوني ضعيف كما مضح في التفاعلات اعلاه. والجدولين(19-2،19-3) يمثل عدد من المبادلات الايونية لفصل المواد العضوية واللاعضوية.

جدول (29- 2) راتنجات المبدل الايوني للفصل الاعضوي

Separation	Ion exchanger	Method
Lanthanides	Sulphonated polystyrene	Elution with citrate buffers
Lanthanides	Dowex 1-X10 in nitrate form—325 mesh	Stepwise and gradient elution with $LiNO_3$ solution
Actinides	Dowex 50 in ammonium form	Elution with ammonium lactate or ammonium α-hydroxy-isobutyrate
Lanthanides from actinides	Dowex 1-X8	Elution using 10 mol dm^{-3} LiCl in 0.1 mol dm^{-3} HCl
Ca, Al, Fe	Dowex 2 in citrate form	Stepwise elution with (a) water, (b) conc. HCl, (c) dil. HCl. (Also involves backwashing with conc. HCl.)
Ca, Sr, Ba, Ce	Dowex 50-X8	Stepwise elution with ammonium α-hydroxy-isobutyrate
Zr, Hf	Dowex 1-X8	Elution with 3.5% H_2SO_4
Zr, Ti, Nb, Ta, W, Mo	Dowex 1-X8 200–400 mesh	Stepwise elution with mixtures involving HCl, oxalic acid, H_2O_2, citric acid and ammonium citrate
Many simple mixtures of metal ions	Dowex 50W-X8 100–200 mesh (in polythene columns)	Stepwise elution with dil. HF, followed by a mineral acid such as HCl or HNO_3

جدول (20- 3) راتنجات المبادل الايوني للفصل العضوي

Separation	Ion exchanger	Method
Amino-acids	Dowex 50-X4	Stepwise and gradient elution with citrate and citrate/acetate buffers
Phosphate esters	Dowex 1-X2 200–400 mesh in chloride or formate form	pH gradient elution (HCl)
Folic acid analogues	Diethylaminoethyl cellulose 100–250 mesh	Gradient elution 0.1–0.4 mol dm^{-3} phosphate
Chlorophenols	Dowex 2-X8 200–400 mesh in acetate form	Gradient elution: acetic acid in ethanol
Aminobenzoic acid, aminophenols, and relates substances	Dowex 1-X10 200–400 mesh in chloride form	Stepwise elution: water; 1 mol dm^{-3}, 5 mol dm^{-3}, and 8 mol dm^{-3} HCl
Proteins	Diethylaminoethyl cellulose	Elution
Separation of acids from bases, both of which are freely water soluble	Sulphonated polystyrene in H form	Stepwise elution: water to remove acids: dil. HCl for bases

سعة المبادل الايوني capacity of ion exchanger

وتعرف سعة الاستبال هي كمية الايونات التي يمكن استبدالها بوحدة ملي مول لكل مل من المبادل الايوني. وطريقة تحديد سعة المبادل الايوني كما يلي:

ناخذ كمية من المبادل الايوني ونعيده إلى وضعه الحامضي اي نعمل له تحويل decantation باستبدال اي ايون بايون الهيدروجين ثم نضع المبادل الايوني ذو الشكل

الحامضي في محلول يحتوي على تركيز عالي من ايونات الصوديوم مثل NaCl ويحصل استبدال اينات الهيروجين H^+ بايونات الصويوم Na^+.

$R^- Na^+ + H_30^+ \leftrightarrow R^-H^+ + Na^+$

$RCl^- + SO_4^{2-} \leftrightarrow 2Cl^-$

نحدد كمية Cl^- عن طريق ترسيبه على شكل كلوريد الفضة أو عن طريق عملية النسحيح. وتتراوح قيم السعة للمبادل الايوني الناشف 1-5mmol/ml وعند مزج المبادل الايوني مع الماء تكون له سعة استبدال مختلفة عن وضعه وهو ناشف والسيي هو حصول انتفاخ بسبب الضغط الازموزي ووصوله إلى حجم اكبر. القوة الداخلية (الايونية) داخل المعقد اكبر من المحيط المائي وهذا يولد ضغط عال جدا بحيث اذا عبئنا العمود براتنج وهو ناشف واضفنا فوقه سائل فسينتفخ ويولد ضغط يمكن ان ينكسر العمود. لذلك يعبأ العمود بعد احداث swelling في الخارج. معامل التوزيع للمبادل الايوني K_d وهو يشبه اي اتزان كيميائي.

K_d= حاصل ضرب تراكيز النوتج/ حاصل ضرب تراكيز المتفاعلات.

ولكن هنا يوجد اتزان للايونات حيث يحصل مقابل انتقال كل ايون من السائل إلى الراتنج لابد من اتقال ايونات بالاتجاه المعاكس اي من الراتنج إلى المحلول. فيكون:

$$n(R^-H^+) + M^{n+} \rightleftharpoons (R^-)_n M^{n+} + nH^+$$

$$K_d = [M^{n+}]_R [H^+]^n / [M^{n+}][H^+]^n_R$$

ويسمى K_d بمعامل الانتقائية لان قيمته تؤثر على انتقائية الارتباط للمبادل الايوني العوامل المؤثرة على K_d ، وتزيد K_d عند الظروف الاتية:

1- تزداد K_d عند زيادة الشحنة على الفلز.

$$Na^+(aq.) < Ca^{2+}(aq.) < Al^{3+}(aq.) < Th^{4+}(aq.)$$

$$F^- < HCO_3^- < Cl^- < HSO_3^- < CN^- < Br^- < NO_3^- < I^- \ll SO_4^{2-}$$

يكون ايون الصوديوم اعلى K_d الكونة يحمل اقل شحنة.

2- تزداد K_d عند نقصان في قطر الفلز.

$$Li^+(aq.) < Na^+(aq.) < NH_4^+(aq.) < K^+(aq.) < Tl^+(aq.) < Ag^+(aq.)$$
$$Mg^{2+}(aq.) < Ca^{2+}(aq.) < Sr^{2+}(aq.) < Ba^{2+}(aq.)$$
$$Al^{3+}(aq.) < Sc^{3+}(aq.) < Lu^{3+}(aq.) < \ldots \text{lanthanides} \ldots < La^{3+}(aq.)$$

تعتبر ايونات الليثيوم والمغنيسيوم والالمنيوم ذات K_d اعلى من نظيراتها لكونها اصغر قطرا. وهذه النقطة مهمة عندما يكون الهدف استبدال ايونات متشابه مثل rare earth

وalkali metals فكلما كان التشابه بين الايونات اكبر كان وقت خروج الايونات elution اكبر لذلك الايونات المتشابه تخرج بترتيب يتناسب مع قطر الايون، فالايون الاكبر يخرج أولا، لان K_d له اقل فكلما كانت الايونات اصغر تبقى فترة اطول وهو يشبه كروماتوغرافيا التنافذ الجيلاتيني gel permeation chromatography (GPC) اذ الجزيئات اكبر تخرج أولا.

3- كلما زادت خاصية الترابط داخل الراتنج كلما زادت قيمة K_d، ولتعيين الحجم المناسب لخروج كل مادة مثل A أو ما يسمى elution volume.

$V_R=V_M (1+K^-)$

V_M= حجم الفراغات بين الجزيئات في التبادل الايوني اما K^- فيكون:

$= (mmol\ A^-)_{st}/(mmol\ A^-)_m\ K^-$

$D=K^-$ ويدعى بنسبة التوزيع distribution ratio.

في الاستبدال الايوني يحصل تناقص (تنافس) وبالتالي K^- تعتمد على التركيز الايون وبالاتي زمن الاجتجاز t_R تعتمد على تركيز الايونات.

$K_{D,A}=[R^-H^+][H_3O^+]/[R^-H^+][A^+]$

$K_{D,B}= =[R^-B^+][H_3O^+]/[R^-H^+][B^+]$

$Separation\ factor=\alpha= K_{D,A}/ K_{D,B}= [RA][H_3O^+][RH][B^+]/[RH][A][RB][H_3O^+]$

α = عامل الفصل وهو لا يعتمد على تركيز ايونات اخرى الاعلى تراكيز A وb اي يعتمد على تركيز الايونين الذين نريد فصلهما وبالتالي تتنافس على الاماكن داخل المبادل الايوني.

ومن اهم تطبيقات كروموتوغرافيا التبادل الأيوني انه يستخدم في الكيمياء الحياتية لفصل الاحماض الامينية بعد التحكم في pH وelution. كما يمكن ان يستخدم في عمود HPLC الذي يحتوي على مبادل ايوني لفصل كاتيونات مثل K^+ وNa^+ وامكانية الكشف عنهما باستخدام كاشف التوصيل الحراري.

كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي size exclusion chromatography

يعتبر وكروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي (SEC) حالة خاصة من LLC حيث تفصل مكوناته حسب حجم الجزيات وتقسم نظرياً إلى نوعين هما: كروماتوغرافيا التنافذ الجيلاتيني gel permeation chromatography (GPC) وكروماتوغرافيا الترشيح الجيلاتيني gel filtration (GFC)، والفرق بينهما تاريخي فقط واقترح IUOPAC استخدام تعبير GPC وجذف GFC لتقليل الالتباس.

كروماتوغرافيا الترشيح الجيلاتيني والتي تعرف أيضاً بكروموتوغرافيا النخل أو الاستبعاد حيث تفصل الجزيئات على أساس حجمها أو شكلها، هنا تكون المسامات في الهلام ذات اشكال منتظمة ومتسوية في الحجم، اذ تنفذ الجزيئات الصغيرة إلى مسامات الهلام وتمسك هناك، بينما تجرف الجزيئات الكبيرة التي لا يمكن أن تنفذ من المسام إلى خارج العمود وكانت أعمدة GFC تملاء بمادة السيفادكس كطور ساكن مع محلول مائي وبفر لفصل مركبات بايولوجية.

اما أعمدة GPC استخدمت اطوار ساكنة اكثر ثباتاً مثل البولي ستايرين أو السيلكاجيل مع مذيبات عضوية وتستخدم لفصل مركبات عضوية. وتم اكتشاف هذا النوع عام ١٩٥٠م بواسطة العالمان Flodin وPorath وفي هذه الطريقة يعبأ العمود بمادة هلامية (gel) يحتوي جزيئها الكبير جداً على تركيب يشبه المنخل وعند إمرار المواد المراد فصلها من خلالها يتم فصلها بناءً عل ى حجم جزيئاتها بطريقه تشبه عمل المنخل تماماً حيث يسمح للجزيئات ذات الأحجام الصغيرة بالمرور أو الانتشار خلالها، أما الجزيئات ذات الأحجام الأكبر فلا يسمح لها بالمرور من خلال المسام وبالتالي تمر بسرعة خلال العمود وتخرج منه أولاً دون أي إعاقة.

ومن اهم خصائص GPC ان الطور السائل الثابت والطور المتحرك هي مادة واحدة مثل مزيج ethyl acetate وcyclohexane (1:1).

عند اضافة المذيب لحبيبات المادة المراد تعبئتها في العمود يحصل لها انتفاخ مثل حبة الحمص الناشف وممكن يزيد حجم الحبيبة عدة مرات ولكي نتحاشى الاضرار الناتجة منها نقوم باجراء هذه العملية خارج العمود تحاشيا للضغط الحاصل من عملية الانتفاخ swelling.

لو ادخلنا على عمود GPC ثلاث مكبات هي A > B > C المادة A اكبر من اكبر فتحة موجودة في المادة المعباة وبالاتي لن تدخل وتستمر مع الطور المتحرك وتخرج من العمود أول شيء. اما المادة C يكون حجمها صغير وتحتاج إلى وقت للدخول إلى عمق الثقب ثم إلى وقت للخروج منه وبالاتي تحتاج إلى وقت اطول للخروج مقارنة بالمادة A والازمة لخروج اكبر مادة من العمود (V_R) يمكن ان تمثل بالمعادلة الاتية:

$V_R=V_m$ كانها تتصرف مثل الطور المتحرك. اما الجزيء الصغير مثل C فانه يحتاج لحجم معين من السائل يمكن التعبير عنة كما يلي:

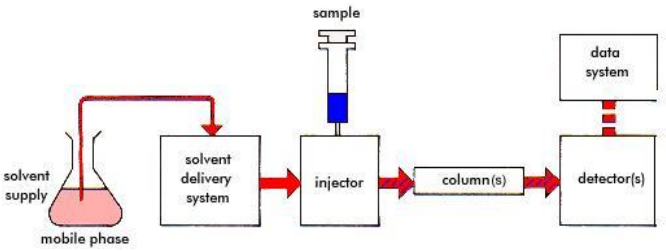
V_R ،$V_R = V_m + V_S$: حجم السائل الموجود داخل العمود وداخل مجموع الثقوب. اما المادة B تكون ما بيتهما ويعبر عن الحجم الازم لخروجها كما يلي:

$0 \leq k \leq 1$ = k و: $V_R = V_m + KV_S$

ويمكن اعتبار هذه المعادلة معادلة عامة. تكون k = 0 للجزيئات الكبيرة وعندما تكون k=1 للجزيئات الصغيرة واعتبار الجزيئة صغيرة أو كبيرة حسب نوع المادة المعباة packing materials.

مبدا العمل في هذه التقنية يتم من خلال تحديد معدل سعة جريان الطور السائل المتحرك قد تكون 5 مل لكل دقيقة ونبدأ بجمع المكونات الخارجة من العمود كل 10 مللتر اما باليد أو بواسطة جامع الوجبات fraction collector وتعيين نوع المواد اما باستخدام GC أو HPLC لمعرفة المركب المطلوب.

وهناك شكل اختياري من الكروموتوغرافيا يشمل كروموتوغرافيا الألفة Affinity التي تقوم على أساس الألفة العضوية بين نوعين من الجزيئات مثل الأنزيم ومثبطة Inhibitor، اذ يرتبط أحدهما بالطور الثابت ويستعمل الآخر في سائل الالتفاظ مما يسمح بفصل أحد المكونات البيولوجية في مزيج من المكونات الأخرى. فالجزيئات الكبيرة تخرج مع الطور المتحرك mobile phase كأنما سرعتها بنفس سرعة الطور المتحرك وبالتالي فانها تخرج أولا من العمود. وقد تم تطوير هذه الطريقة وادخلت احدث الأجهزة مثل وسائل حقن النماذج ومضخات لدفع الطور المتحرك السائل بالاضافة إلى وسائل الكشف والتقدير وتخزين المعلومات ومعالجة النتائج.



شكل (20- 1) مخطط لجهاز الاستثناء والاستبعاد

طرائق كروماتوغرافية اخرى other chromatographic methods

1- كروماتوغرافيا الزوج الايوني Ion pair chromatography

هو احد انوا ع الطور العكسي في كروماتوغرافيا التوزيع ويستخدم في فصل أو الكشف عن المواد الايونية والطور السائل المتحرك يتكون من محلول مائي له pH مثبتة باستخدام محلول بفر ويحتوي على مذيبات عضوية عدا الاسيتون فهو لا يفضل استخدامه لانه

يذوب الطور المستقر وقطع من الكاشف. بالاضافة إلى ذلك يحتوي الطور المتحرك مركبات ايونية تحتوي على ايونات متعاكسة counter– ion (ايون يحمل شحنة معاكسة لشحنة ايون النموذج). يتحد الايون المعاكس مع ايون النموذج ويكون زوج ايوني وبالاتي يحصل تعادل في الشحنة ويتصرف النموذج وكانه متعادل ويفصل على العمود العكسي.

$$A^+ + B^- \rightleftharpoons A^+B^-$$

Ion sample Counter-ion Ion pair

واهم خواص الايونات التي تستخدم كايونات معاكسة ان يكون وزنها الجزيئي كبير ويكون لها زمن احتجاز عالي مقارنة مع المتداخلات. فاذا كان لدينا نموذج يحتوي على أمين نضخ بشكل مستمر الطور المتحرك الذي يحتوي على ايونات البركلورات فيتكون زوج ايوني يمكن فصلة على الطور العكسي.

2– كروماتوغرافيا الكيرالي chiral chromatography

بدا استخدام الطور الساكن الكيرالي في بداية الستينات بحيث استطاع فصل الايزومرات الفعالة ضوئيا optical isomers (+,–) وقد استخدمت في كروماتوغرافيا الغاز ولكن اثبتت كفاءة اعلى في HPLC لان هذه المواد هي مواد عضوية وقد يكون ثباتها اقل في GC وقد يحصل لها racemization عند درجات الحرارة العالية. وتعتبر هذه الطريقة ذات انتقالية عالية. ويوجد اكثر من 12 نوع من الطور الساكن الكيرالي متوفر من عدد من الشركات الصانعة. ويمكن استخدام السليكاجيل كمادة خاملة تحمل مادة كيرالية وكما يمكن استخدام بدل السيلكا مادة بولمرية لها خاصية الفعالية الضوئية. مثال على ذلك اذا اخذنا L- proline وربط في احد الابحاث مع poly styrene vinyl benzene يمكن ان نفصل عليه مزيج راسيمي من الحوامض الامينية فاذا كانت O,N في نفس الاتجاه من المركب يعمل معقد بين L– proline وفلز النحاس (N- Cu- N و O- Cu- O في نفس الاتجاه) الذي يدخل مع الطور المتحرك ويكون لهذا المعقد زمن احتجاز اعلى وبذلك يمكن فصلة. بينما enantiomer الاخر لا يعمل هذا المعقد.

3– كروماتوغرافيا السائل الحرج super critical fluids

لايزال استخدام هذا النوع SFC قليل مع انه يجمع بين خواص GC وLC وخاصة HPLC ولها تطبيقات كثيرة في مجال الصناعة والاغذية والابحاث العلمية. وهذا النوع مهم لانه يسمح بالكشف عن مركبات صعب الكشف عنها بـ GC أو HPLC مثل:

1– مركبات ليس لها تطايريه وليس لها ثبات حراري وبالتالي يصعب تحليلها بـGC.

2- مركبات لا تحتوي على مجاميع فعالة يسمح بالكشف عنها بمكشاف الامتصاصية في HPLC أو مكشاف الكهروكيميائية مع HPLC.

في SFC يمكن استخدام أعمدة GC (الأعمدة الشعرية) ومكشافات HPLC أو العكس. وتقدر نسبة المواد التي تفصل وتكشف بشكل جيد باستخدام SFC 25% من مجموع المواد التي يمكن فصلها بـ GC او HPLC. وتعرف السوائل الحرجة بانها المواد عند تواجدها فوق درجة حرارتها الحرجة وفوق ضغطها الحرج. ان اي سائل حرج له قيمتين مهمتين من درجة حرارة حرجة وضغط حرج فثاني أوكسيد الكاربون له درجة حرارة حرجة 31.3 وضغط حرج 72.9atm ويعتبر من اكثر الغازات استخداماً في هذه التقنية وذلك لسهولة التعامل معه والوصول إلى الظروف الحرجة من درجة الحرارة الحرجة المتدنية وضغط حرج غير عالي نسبياً وقلة سميته.

ومن مزايا السوائل الحرجة كطور متحرك مقارنة مع HPLC ان المادة المذابة لها معامل انتشار عالي في السوائل الحرجة وهذا يؤدي إلى تحسين سرعة الفصل والحصول على عزل عالي لعينات معقدة تحتوي على عدد كبير من المركبات ومقارنة مع GC ان المادة المذابة ليس ضروريا ان يكون متطايراً أو ثابت حرارياً. وفي هذه الطريقة يبرد الطور السائل لنحصل عليه على شكل سائل حرج يسهل ضخه على العمود مع رفع درجة حرارته اعلى من درجة حرارته الحرجة.

اسئلة الفصل العشرون

1- ما الاختلاف بين كروماتوغرافيا التبادل الايوني وكروماتوغرافيا الجل التنافذي.

2- ماذا تعني كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي وما نوع النموذج الذي يمكن فصلة بهذه الطريقة.

3- اقترح نوع من طرائق كروماتوغرافيا السائل مناسبة لفصل مما ياتي:

a- الانثراسين والفينانثرين.

b- ايون الباريوم والسترانتيوم.

c- C_4H_9COOH و $C_5H_{11}COOH$.

d- سكريات ذات وزن جزيئي عالي.

4- لماذا يستخدم سبرسر suppressor في كروماتوغرافيا الايون Chromatograph Ion.

5- متى تستخدم كروماتوغرافيا الامتزاز بدلا من كروماتوغرافيا الطور العكسي.

6- وضح بعض العوامل التي تؤثر على انتقائية راتنجات التبادل الايوني.

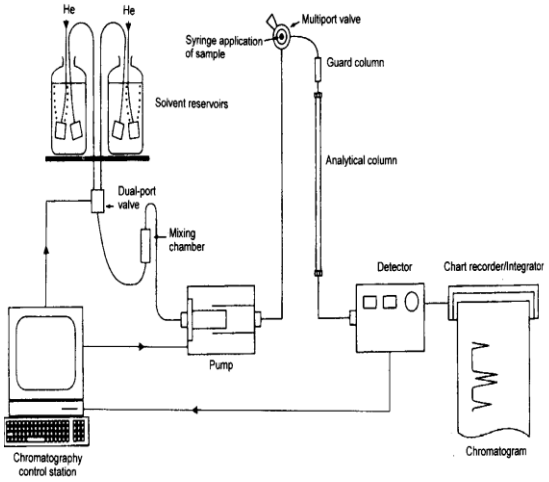
7- عرف ما ياتي: LC, LLC, LSC, BPC, IEC, IC, SEC, GPC, GFC.

الفصل الحادي والعشرون
كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء
High performance liquid chromatography

كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC

هو نوع من **الكروماتوغرافيا** الالي الذي يكون فيه الطور المتحرك سائل. ان مناقشة الاسس والمبادىء لهذه التقنية تتلخص بان هناك طور متحرك سائل يمكن السيطرة عليه ليتحرك خلال عمود يحتوي على طور مستقر. وعندما ناخذ مزيج من المركبات يمكن حقنها من رأس عمود فيتم الفصل لهذه المركبات عند مرورها على هذا العمود مما يؤدي بالنتيجة ان هذه المركبات يتم الكشف عنها الكترونيا عندما تمر من على العمود بزمن معين فيتم رسمها على شكل قمم.

ان شهرة HPLC تعود بشكل كبير جدا إلى طبيعة الاداء العالي والمزايا الايجابية الممنوحة مقارنة مع الطرق القديمة مثل طريقة العمود المفتوح غير الالي. كما ان طرائق الفصل التي تستغرق ساعات طويلة وربما ايام في الطرق القديمة يمكن ان تنجز بعدة دقائق وربما ثواني مع HPLC كما ان تكنولوجيا الأعمدة الحديثة ومنظومات المذيب المتدرج قد ساهمت إلى حد كبير في حل مشكلة تحليل النماذج المعقدة والتي اصبحت تنجز في فترة قصيرة جداً. يوضح الشكل(20-1) منظومة HPLC.



شكل (21- 1) مخطط جهاز HPLC ذو الخلط التدريجي

في بداية عهد HPLC كان يسمى high pressure لاننا نحتاج لاستخدام مضخة لتمرير الطور السائل على العمود ويتكون ضغط عالي ولكن هذا الضغط ليس هو المطلوب بل

المطلوب هو تحسين كفاءة الفصل لذلك يسمى High performance اي عالي الكفاءة.
ان تطور الأعمدة التي لاتزال تستخدم لاغراض الفصل والتي هي عبارة عن ماسورة زجاجية معبئة بمادة صلبة مثل السليكا لتحسين قدرة الفصل من خلال تحضير حبيبات صغيرة متجانسة. وبعد توفر هذه الامكانية اصبح من الممكن تعبئة الأعمدة بهذه الحبيبات الصغيرة ولكن نحتاج إلى ضغط لتمرير السائل على العمود. ان طريقة HPLC اصبحت طريقة تحليل بدون منافس، اذ بلغ سعر مبيعات الأجهزة في السنوات الاخيرة اكثر من بليون دولار والسبب يعود إلى ما يلي:

1- عالية الحساسية وذات حدود كشف واطئة.
2- الدقة في التعيين الكمي.
3- مناسب لتحليل المواد الغير متطايرة والغير ثابتة حرارياً.
4- قابلية تطبيقة لتحليل المواد في جميع حقول العلم.

شرط:

1- ان يكون للمركب له ذائبية في الطور المتحرك.
2- ان يكون هنالك مكشاف يستطيع الكشف عن هذا المركب.

بلاضافة إلى ما ذكر في GC عن كفاءة العمود فان هناك عاملين اضافيين تؤثر على قدرة العمود على الفصل:

1- تاثير حجم الدقائق للمادة المعباة. ففي معادلة فان ديميتر ان الجزء الذي يمثل C_m له علاقة مع مربع قطر الحبيبات (C_m تتناسب طرديا مع dp^2) لذلك قدرة الفصل للعمود تزداد بشكل تربيعي عند تصغير قطر الحبيبات (أو ضح من GC). ان من الصعب الحصول على سعة خطية صغير جدا ولكن عند تصغير حجم البيانات قد تصل إلى 10 مايكرومتر تكون العلاقة شبه خطية بين H و μ ولان H تكون صغيرة ونحصل على مدى واسع والاتي نحصل على كفاءة عالية للفصل.

2- زيادة اتساع الطبقة extra column band boarding.

بالاضافة إلى التأثيرات التي تحدث داخل العمود لان العمود نفسة يسبب زيادة في اتساع الطبقة فان في HPLC تحصل زيادة في اتساع الطبقة خارج العمود. وهذا النوع ناتج عن انتقال العينة بين اجزاء الجهاز المختلفة خاصة بين العمود والمكشاف ويرجح السبب إلى الفرق في السرعة بين جزيئات العينة التي تتحرك في منتصف العمود والتي تتحرك اسرع

من التي تتحرك قريبة من الجدران. لهذا نعمل جهد لتصغير قطر الانابيب الموصلة في الجهاز خاصة بين العمود والمكشاف.

مقارنة بين HPLC وGC

ان الطور المتحرك في HPLC هو سائل لذلك فان هناك بعض الاختلافات بين HPLC وGC:

1- ميكانيكية الفصل HPLC تتضمن تداخلا خاصا لمكونات المزيج مع الطور المتحرك بينما في GCان الضغط البخاري للمكونات هو الذي يتداخل مع الغاز الناقل للمادة وهواهم شيء في GC.

2- ان القوة التي تحافظ على جريان الطور المتحرك في HPLC هي المضخة التي تعطي ضغط عالي بدلا من الضغط المنظم أو المحصل من أسطوانة الغاز في.

3- ان اداة الحقن في HPLC تحتاج تصميم كلي مختلف بسبب الحاجة إلى ضغط عالي وهناك امكانية ان الطور السائل قد يتفاعل كيمياويا مع المادة المطاطية الموجودة في اداة الحقن.

4- بما يخص الكشاف الذي هو في HPLC يكون مختلف عن GC.

5- هي ان كلا من اداة الحقن والعمود والكشاف في HPLC لا تحتاج إلى تسخين كما في GC ولوان نمط الفصل في HPLC قد يتأثر في الحرارة.

الطور المتحرك في HPLC

في HPLC يوجد مستودع أو خزان لاحتواء الطور المتحرك الذي يكون مصنوع عادة من الزجاج. وتقوم مضخة HPLC بسحب الطور السائل من المستودع بواسطة فعل التفريغ أو تخلخل الضغط. وفي هذه العملية يذوب الهواء في الطور المتحرك وينسحب مع السائل مكونا فقاعات في مجرى النظام. ان الهواء في المنظومة غير مرغوب فيه لانه يسبب تغيرات كبيرة في التحليل منها ان المضخة لا تعمل بشكل صحيح أو الكشاف لا يستجيب بشكل جيد. ان ازالة الهواء من الطور المتحرك يطلق عليه degasing وهذه العملية هي عملية روتينية في HPLC ويمكن ان تتم بعدة طرائق:

1- استخدام غاز الهليوم الذي به نستبدل الهواء لانه لا يتمدد أو يتقلص اي يتصرف مثل السائل ويوجد مرشح لدخول غاز الهيليوم بكمية 1- 2 مل في الدقيقة ويتوزع على شكل فقاعات صغيرة.

2- باستخدام مضخة شفط على السائل.
3- استخدام التحريك الصوتي ultrasonic.
4- الجمع بين 2 و3.

اذا كان الطور المتحرك يحتوي على سوائل فانه يجب ان يلحق بمرشح ونظام سحب للغازات. ويمكن ان يستخدم طور مستقر حبيبي يحاول فيه الطور المتحرك الدوران أو المرور. ان هذه الدقائق الموجودة فيه كطور مستقر يكون حجمها صغير جدا بقطر نصف مايكروميتر وتكون النتيجة هو ان العمود ستقل كفائتة مع الوقت إلى درجة الانسداد. اذن لحل المشكلة هو ان نقوم بالترشيح المسبق prefilltering.

لجميع الاطوار المتحركة قبل البدء بالتجربة. ويمكن ان نستخدم اكثر من مرشح ولزيادة الكفاءة نستخدم عمود حراسة Guard column. ان عمود الحراسة يوضع قبل العمود الاساسي وتكون وظيفته هو لازالة اي مادة ملوثة حيث قد تدخل بعض المواد إلى المحلول واذا دخلت وتحللت في النظام فانها تعطي قمة لزمن استرجاعي قد يؤثر على مجرى التحليل. ان هذه الأعمدة هي ليست مكلفة أو غالية وهي قابلة للاستبدال disposable وللاستخدام المتكرر اذ يمكن تغييرة من فترة إلى اخرى. طول هذا العمود 2cm وقطرة الداخلي نفس قطر العمود التحليلي ومعبأ نفس مادة الطور الساكن ولكن يفضل ان تكون حجم الحبيبات اكبر حتى لا يزيد الضغط عن الحد الذي لا يتحمله الجهاز.

<u>منظومة سحب مكونات المزيج من الطور المتحرك</u>

هناك طريقتان للفصل بالطور المتحرك تستخدم لسحب أو فصل مكونات المزيج من الطور المتحرك. وهذه الطرق يشار اليها:

1- الفصل الايزوكراتك isocratic elution. ويقصد بالايزوكراتك هو طريقة فصل تكون فيه مكونات الطور المتحرك المنفرد موجودة خلال الفصل من بدايته إلى نهايته اي يستخدم وعاء واحد أو مذيب واحد لا تتغير نسبته اثناء الفصلconstant composition. اذ ان هناك في بعض الاحيان يستخدم طور متحرك يختلف عن الاول وهذا معناة اننا سنغير الطور المتحرك بايقاف سريان النظام ووضع طور متحرك اخر في الخزان ثم اعادة العملية ثانية.

2- الفصل المتدرج gradient elution: هو عبارة عن طريقة تكون فيها مكونات الطور المتحرك في حالة متغيرة وغالبا ما تكون متدرجة اذ انها تكون في منتصف التجربة وكانه

ينظر اليها كما لو كانت أشبه ببرمجة درجة الحرارة الموجودة في GC. اي تغيير نسبة مذيب إلى مذيب اخر من خلال برنامج microprocessor controller الذي يتحكم بالمضخة ليغير نسب السوائل كما نريد وبالتالي نغير القطبية في المزيج. في اي تجربة في HPLC تكون مكونات الطور المتحرك ذات اهمية قصوى في منظومة الفصل الكلية. ان زمن الاحتجاز والذي يمثل القدرة على الفصل يمكن ان يعدل بشكل كبير جدا بواسطة تغيير مكونات الطور المتحرك. وعند اجراء تجارب مع اطوار متحركة فقد وجد انه يمكن استخدام مزيج من مذيب أو ثلاث مذيبات بنسب مختلفة بشرط اختيار هذه المزيجات كما يلي:

ا- يجب ان تكون مكونات المزيج ذات الفئة عالية نسبيا بالنسبة للطور المتحرك لكي نحصل على فصل جيد بسبب زمن الاحتجاز الطويل.

2- تعديل المتغيرات الاساسية من درجة حرارة ومعدل جريان الطور المتحرك وحجم الدقائق الطور المستقر والفصل التدريجي.

3- اذا كان لدينا مزيج من مركبات ذات قطبية عالية فنستخدم كروماتوغرافيا التجزئة اما المركبات غير القطبية فنستخدم كروماتوغرافيا الامتزاز.

المضخة pump

ان المضخة المستخدمة في HPLC لا يمكن ان تكون كأي مضخة، يجب ان تكون المضخة خاصة وقادرة على تسليط ضغط عالي وذلك لغرض ضخ الطور المتحرك خلال طور مستقر مضغوط والمواصفات العامة للمضخة كما يلي:

1- توليد ضغط عالي قد يصل الى 6000 psi (باون/ انج مربع). وان الضغط العالي لن يخيف لان السوائل تتمتع بخاصية عدم الانضغاط.

2- لا يتوقف خروج السائل اثناء الضخ اي انه خالي من النبضات.

3- الطور المتحرك له سعة سريان 0.1- 10 مل في الدقيقة وتزداد هذه السرعة عند استخدام أعمدة تحضيرية.

4- يكون الطور المتحرك ثابت خلال العمل وامكانية تعيين الوقت الازم لخروج حجم الطور المتحرك باستخدام ساعة توقيت بحيث لا يزيد الفرق في كل مرة عن 0.5%.

5- مكوناتها مقاومة للصدأ وخاصة رأس المضخة التي هي اكثر قطعة ملامسة للسوائل لذلك تصنع من الحديد المقاوم للصدأ أو من التفلون. ان تصدا المكونات يعمل تلوث

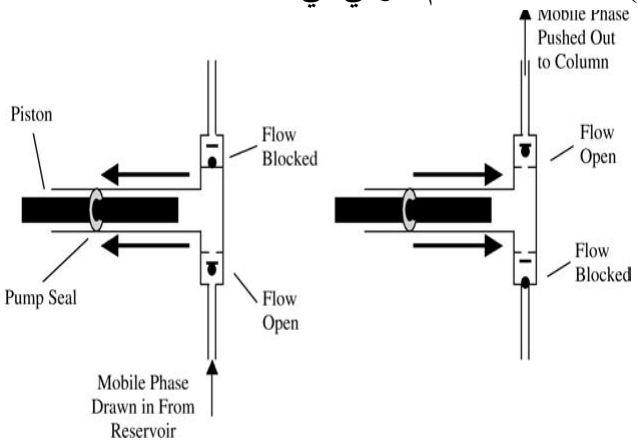
للطور المتحرك خاصة اذا كنا نحلل ايونات باستخدام المبادلات الايونية والطور المتحرك مائي.

انواع المضخات:

1- مضخة ذو الحاقنة displacement pump أو syringe type pump: تحتوي على حيز يمكن تعبئته بالسائل يحتوي على قطعة متحركة plunger تتحرك عن طريق محرك بحركة لولبية من مميزاتها انها تعطي سرعة ثابتة ولكن الحيز محدود فاذا يفرغ السائل يجب ان يوقف الجهاز ويعاود ملئه.

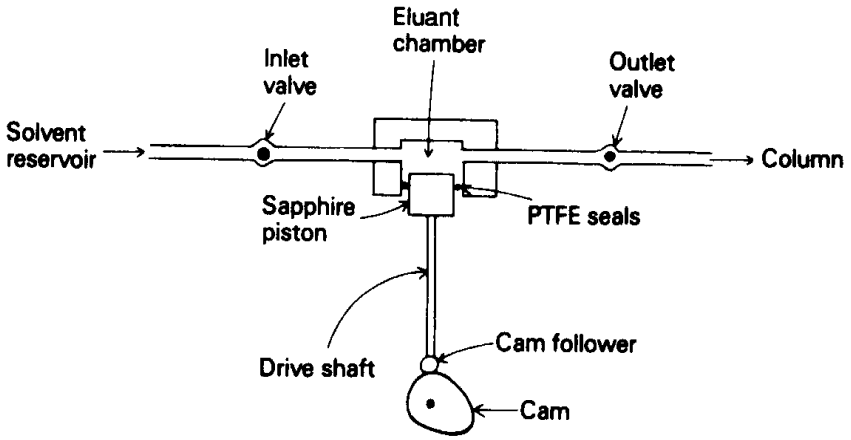
2- مضخة الهواء المضغوط pneumatic pump: هذا النوع من المضخات رخيص وتعطي معدل سرعة ثابتة ومن سيئاتها كمية السائل المتدفق ثابت وكلما نقص السائل يحدث تغير في السرعة.

3- مضخة الحركة التعاكسية للمكبس reciprocating pump: هذا النوع من المضخات يوجد في معظم الأجهزة الحديثة وتحتوي هذه المضخة على مكبس من نوع الدوار reciprocating piston pump هذا النوع من المكبس يحتوي في داخله على مكبس صغير قطرة حوالي ربع انج ويمتاز بتحركه إلى الامام والخلف ويقوم بسكب السائل خلال صمام دخول بحيث عند حركته الخلفية ثم تقدمه إلى الامام يطرد السائل وهناك صمام اخر يدعى A check valve وهو عبارة عن اداة تسمح للسائل بالحركة باتجاه واحد وتكون من مادة الحجر الكريم (خرز). وعنما يتحرك المكبس خلال حركته المرنة يطلق عليه بالمضخة المندمجة pump seal وهذا يمنع السائل من التسرب خلال راس المكبس. والشكل (20-2) يمثل عمل صمام اللولبي في المضخة التعاكسية.



شكل (21- 2) يمثل عمل المضخة التعاكسي

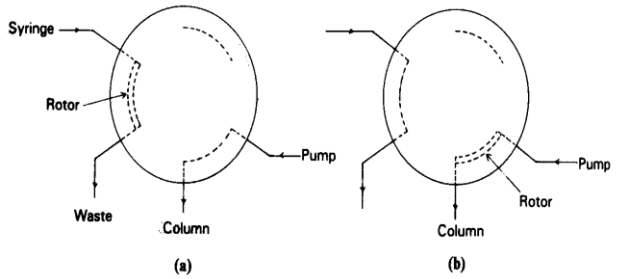
ان الطور المتحرك المستخدم قد يحتوي على بعض المواد المذابة كشوائب لذلك يجب ان يدفع بالطور المتحرك بسرعة بعد انتهاء التحليل وذلك للتنظيف. بعض الشركات حاولت ان تصنع مضخات عليها رأس واحد بان تكون الحركة الامامية بطيئة والحركة الخلفية سريعة جدا وبالاتي لا يكون انقطاع في السائل ولكن وجد ان هذا النوع يتعطل سريعاً.



شكل (21- 3) مضة ذو مكبس منفرد

حقن النموذج sample injection

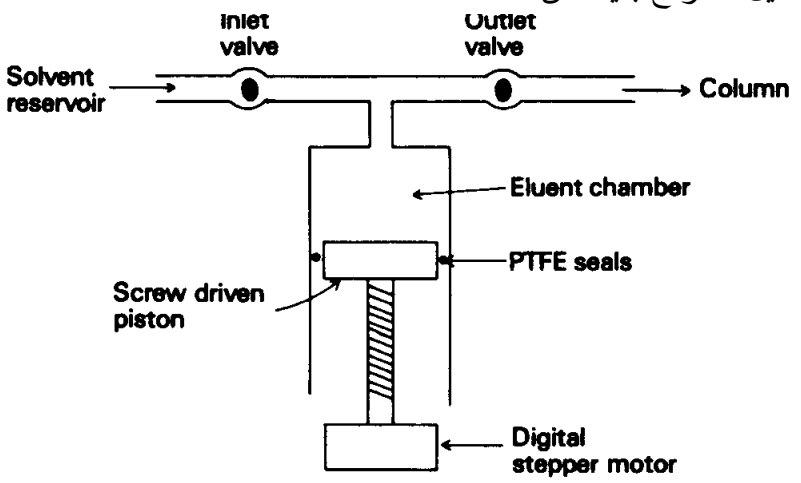
ان ادخال النموذج إلى الطور المتحرك الجاري في قمة العمود يشكل مشكلة خاصة في HPLC بسبب الضغط العالي للمنظومة وحقيقة الامر ان الطور السائل يهاجم القاعدة المطاطية لمنظومة الحقن لهذا السبب يستخدم الحاقن الولبي loop injector كما موضح في الشكل (20-4).



شكل (21- 4) الصمام اللولبي a– جزء التعبئة الدوار. b– جزء حقن النموذج

وهو عبارة عن صمام ثنائي الموقع يوجه سريان الطور المتحرك باتجاه واحد وله مسارين: الاول يكون لولب النموذج والذي اذا مليء به النموذج فانه ينساب إلى العمود بواسطة الطور المتحرك والمسار الثاني هو عبارة path by passes يتصل باللولب من جهة

والعمود من جهة ثانية حيث يعطي تنفيس للولب من الهواء اي إلى الخارج ويكون قادر على تحميل النموذج بعيدا عن الضغط.



شكل (21- 5) عمل الحاقنة syringe pump

ان لولب النموذج يمتلك حجم خاص بحيث يكون قياس حجم النموذج غير ضروري. وبالنسبة للحجم الممكن تكراره فانه يساوي حجم اللولب فاذا كان الحجم المحقون اصغر من حجم اللولب يمكن ان نغير اللولب إلى اصغر واذا كان حجم اللولب اكبر يمليء جزئيا. بالنسبة إلى ادوات الحقن الاوتوماتيكية والتي غالبا ما تستخدم عندما يراد حقن عدد كبير من النماذج فان اكثر التصاميم تتضمن استخدام ادوات حقن مرتبطة بابرة روبوتية والتي تسحب النماذج من خلال انابيب مرتبة اشبه بالمخروط. وبعض التصاميم تسمح بتحضير النموذج على شكل استخلاص أو تكوين مشتق بواسطة تفاعل كيمياوي قبل الحقن.

الأعمدة columns

تصنع الأعمدة من انبوب معدني جداره الداخلي يصنع من الفولاذ المقاوم للصدا بسماكة جدار تتحمل ضغط 7000 psi أو من الزجاج السميك الذي يستخدم فقط لاغراض خاصة ولا يزيد الضغط عن 6000 psi ويمكن ان يزود بعمود قطرة الخارجي يساوي القطر الداخلي للعمود الخارجي حتى يتحمل ضغط اعلى. في معظم الحلات تكون أعمدة HPLC للتحليل بطول 250 ملمتر وبقطر داخلي 4 ملمتر وتجد باطوال اخرى تتراوح 10- 50 سنتمتر أو يمكن ربط عمودين لزيادة الطول وتكون اسعار الأعمدة بشكل عام عالية وخاصة الأعمدة العكسية R- Ph واهم انواع الأعمدة كما يلي:

1- أعمدة التحليل analytical column: كمية المادة للطور الساكن 2 غرام تقريبا والقطر الداخلي 4 ملمتر وهو المعتمد من معظم الشركات. والهدف الرئيسي هو لاغراض التحليل ويعطي صفائح النظرية 6000- 40000 في المتر.

2- العمود الحارس guard column أو pre column

وظيفته الرئيسية هو لحماية العمود التحليلي من الاتساخ. ويمكن ان يكون العمود الحارس على شكل cartridge مصنوعة من مواد بلاستيكية.

3- العمود التحضيري preparative column: ويستخدم لغرض فصل المواد بعد تحضيرها ويمليء بمواد تتراوح 30- 250 غرام وبطول 0.5- 0.75 متر وذو قطر داخلي 1.5- 2 سنتمتر ويحتاج إلى كمية كبيرة من الطور المتحرك لذلك يجب ان نستخدم مضخة لها preparative head تضخ 10- 50 مللتر في الدقيقة.

- اختيار العمود المناسب:

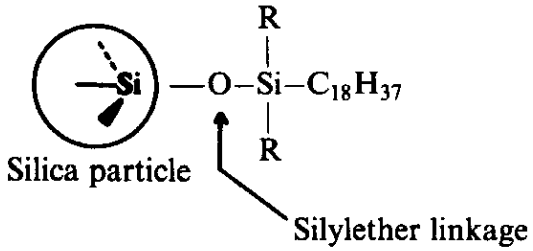
ان الاطوار المستقرة المتوفرة والمناسبة لـ HPLC هي بانواع متعددة وتكون متوفرة كما في GC. والطرق المستخدمة في HPLC هي طرائق امتزاز وطرق الفصل بالتوزيع وطرق التبادل الايوني وطرق الاستبعاد الحجمي وهي جميعا مستخدمه في LC لذلك يمكن تصنيف الاطوار المستقرة حسب الانواع الاربعة من الكروماتوغرافيا التي تمثلها. اضافة إلى ذلك ان HPLC من نوع كروماتوغرافيا التوزيع هو اكثر الانواع انتشارا. وهنالك نوع اعتيادي normal phase chromatography واخر عكسي reverse phase chromatography.

- أعمدة الطور الاعتيادي Normal phase Column

يتكون الطور الاعتيادي HPLC من طور متحرك غير قطبي موجود مع طور مستقر قطبي. اما بالنسبة لكروماتوغرافيا الامتزاز فهو ايضا يحتوي على طور مستقر ولكنة صلب وقطبي جدا وطور متحرك غير قطبي. اما كروماتوغرافيا التوزيع فيستفيد من وجود طور مستقر سائل قطبي ويكون مرتبط كيمياويا بهذه الدقائق القطبية وهي كالعادة رابط اوكسجين سيلكون SI–O ومن الاطوار المشهورة مجموعة السيانو (-CN) ومجموعة الامينو (-NH_2) ومجموعة الدايول (−CH_2OH- CHOH) وهو جزء من تركيب الطور المترابط أو الرابطي. اما بالنسبة للاطوار المتحركة النموذجية في HPLC الاعتيادي هي الهكسان، سايكلوهكسان، الكلوروفورم، البنزين، تلوين ورابع كلوريد الكاربون.

- أعمدة الطور العكسي reverse phase column

يستخدم الطور العكسي في HPLC طوراً متحركاً قطبياً مع طور مستقر غير قطبي يكون مربوط ربط كيميائي على المادة الحاملة. وهو طور ترابطي يشمل في تركيبة على رابطة كيميائية من خلال ارتباطه بدقائق السيلكا. ومع الوقت طغت هذه الطريقة على طريقة الامتزاز الفيزياوي. ومن هنا اسماء الأعمدة النموذجية يكون لها سلسلة كربونية عددها يدل على عدم قطبيتها. فلدينا سلسلة عدد ذرات الكاربون C_8 وC_{18} (ODS) ويعني octadecyl silan كما في الشكل (6-20) ويكون الطور المتحرك فيها الماء أو الميثانول أو الاسيتونايترايل (CH_3N) أو محلول حامض الخليك مع خلات الصوديوم pH=10. وخروج المواد من العمود حسب قطبيها فالمواد ذات القطبية اعلى تخرج أولا وهي عكس أعمدة الطور الاعتيادي فالماد التي لها قطبية قليلة تخرج أولا.



شكل (6 -21) ارتباط ODS على الطور المتحرك

- أعمدة الامتزاز adsorption columns

هذا النوع من الكروماتوغرافيا تكون فيه دقائق السيلكا عالية القطبية معرضة إلى طور سائل مترابط غير ممتز. وقد يكون الطور الثابت المستقر عبارة عن دقائق أوكسيد الالمنيوم وهو طور طبيعي وقد تكون دقائقه منتظمة أو غير منتظمة أو تكون حبيبية أو كروية على شكل حبات من الزجاج.

- أعمدة التبادل الايوني ion exchange column

ان الاطوار المستقرة ذات التبادل الايوني تتكون من حبيبات راتنجية صلبة تمتلك مواقع ترابط موجبة أو سالبة تحدث عليها عملية التبادل الايوني مع الطور المتحرك. هناك راتنجات تبادل كاتايوني (SCX) وتمتلك مواقع استبدال سالبة والتي بموجبها نستبدل الكاتيونات وراتنجات تبادل ايوني (SAX) التي تمتلك مواقع موجبة تستبدل عليها الانيونات. ان كروماتوغرافيا **التبادل الايوني** في HPLC هو عبارة عن كروماتوغرافيا

ايوني IC. ويتم الكشف عن الايونات النازلة من العمود والتي تشكل مشكلة بالنسبة للكيمياوي اذ ان الطور المتحرك في هذه الحالة يجب ان يكون محلول منظم لـ pH.

- أعمدة الاستبعاد الحجمي column size exclusion

تهتم هذه الأعمدة بفصل مكونات مزيج على اساس الاختلاف في حجم الجزيئات والتي تتداخل مع سطح يحتوي فتحات مختلفة الاحجام من دقائق بوليمرية مسامية ويقسم كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي إلى نوعين:

1- كروماتوغرافيا التنافذ الجيلاتيني GPC. ويستخدم اطوار متحركة عضوية غير قطبية مثل كلوروفورم، تلوين. تراي كلوروبنزين وذلك لتحليل البوليمرات العضوية مثل بولي ستايرين والطور المستقر جيلاتيني ناعم soft.

2- كروماتوغرافيا الترشيح الجيلاتيني GFC. ان الاطوار المتحركة فيه هي عبارة عن محليل مائية تستخدم لتحليل بوليمرات طبيعية مثل البروتينات والاحماض النووية. اما الاطوار المستقرة فيه فهي عبارة عن مواد جيلاتينية مثل السيلكاجيل.

وكلا النوعين يستخدمان الفصل التدريجي gradient elution لان حجم الفتحات للطور المستقر تكون حساسة للطور المتحرك.

الجدول (21- 1) خلاصة تطبيق طرائق HPLC المختلفة.

نوع الطريقة	الاستخدام الافضل للطريقة
الطور الاعتيادي أو العكسي	تستخدم للمركبات ذات الوزن الجزيئي الواطىء اقل من 2000 والمركبات الغير ايونية والمركبات الذائبة في الماء أو المذيبات العضوية.
الامتزاز	تستخدم للمركبات ذات الوزن الجزيئي اقل من 2000 وللماد الغير قطبية والمواد التي تذوب في لمذيبات العضوية
التبادل الايوني	يستخدم للمركبات التي لها وزن جزيئي اعلى من 2000 ولكن المركبات تكون ذائبة في الماء.
حجم الاستثناء	للمركبات ذات وزن جزيئي اقل أو اكبر من 2000 وللمكبات الغير ايونية والذائبة في الماء أو المذيبات العضوية.

المكشافات Detectors

ان وظيفة مكشاف HPLC هي للفحص أو الاختبار للمحلول بعد اجراء عليه عملية فصل من العمود ويعطي اشارة الكترونية متناسبة مع تركيز المكونات المنفردة الموجودة في المحلول. لا يوجد مكشاف واحد يفي لكل اغراض الكشف في HPLC ويمكن تقسيم المكشافات إلى:

1- تتجاوب لخواص الطور المتحرك كخواص مجتمعة وتدعى bulk property detector مثل مكشاف معامل الانكسار ومكشاف ثابت العزل الكهربائي والكثافة.

2- مكشافات تتجاوب فقط مع خواص المذاب وتسمى solute property detector مثل مكشاف الأشعة المرئية U. V. ومكشاف التفلور ومكشاف التيار التنافذي.

ان مكشاف التفلور يعطي افضل حدود كشف ولكنة خاص لنوع معين من المركبات. وعموما ان 70% من الابحاث تستخدم مكشاف الأشعة فوق البنفسجية و5.4% تستخدم مكشاف معامل الانكسار و5% تستخدم مكشاف التفلورو 4.3% تستخدم مكشاف الكهروكيميائي.

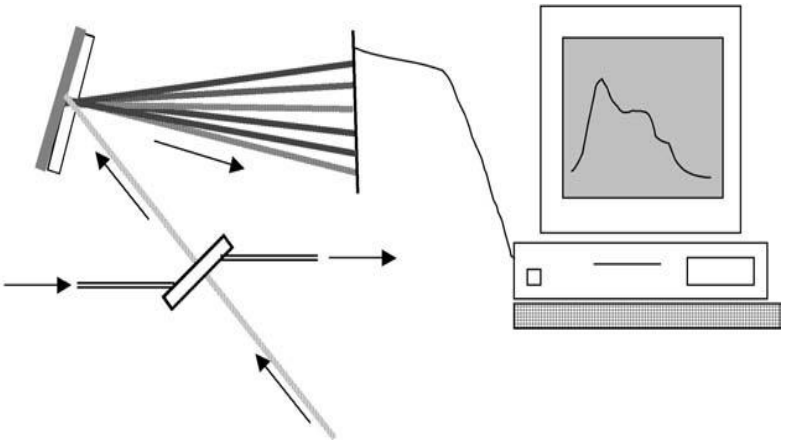
- انواع المكشافات Types of detector

1- مكشاف الأشعة فوق البنفسجية. يقيس هذا المكشاف المحلول المتحرك أو الجاري. ويوجد مصدر ضوئي واداة اختيار طول موجي وانبوب فوتوني. اما الخلية التي يوجد فيها المحلول فهي خلية سريان flow cell ويجري خلالها المحلول ثم إلى العمود عبر الطور المتحرك نحصل على رسم كروماتوغرام فيه خط يمثل امتصاص صفر وعند خروج المادة من العمود ويزداد تركيزها بالمقابل تزداد الامتصاصية ونحصل على قمة. ويمكن تغيير الطول الموجي طبقاً إلى تغيير المرشح الضوئي.

2- مكشاف الصمام الثاني Diode Array detector

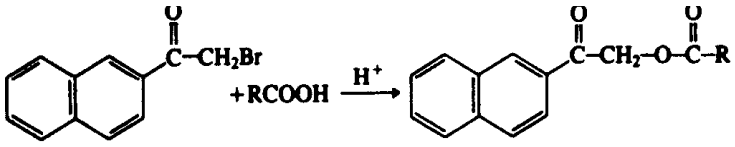
هذا المكشاف عبارة عن مطياف الأشعة فوق البنفسجية وثنائي الصمام ويمتلك خلية جريان. عندما ياتي الضوء من المصدر يمر خلال هذه الخلية المتحركة ويتوزع على المحززة ثم يتوزع الضوء المتفرق عبر صمام ثنائي فوتوني قادر على كشف الحزم الضوئية الضيقة وبالاستعانة بمنظومة بيانات يمكن قياس الطيف للأشعة فوق البنفسجية لكل مركب ينفصل من النظام كما في الشكل (20-8). وتعتبر صمامات عاكسة وتكبر الاشارات الضعيفة ملايين المرات. ويكون التحليل سريعاً وشاملاً وحساساً وخاصة عند استخدام

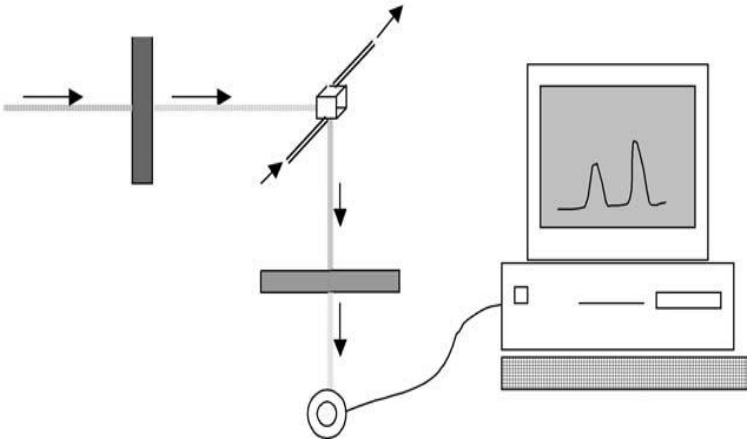
حاسوب يمتلك بنك من المعلومات لاطياف المركبات. ان القمم المعروضة في هذا النوع من المكشافات فقط للمواد المراد تحليلها.



شكل (21- 8) مخطط لمكشاف الصمام الثاني

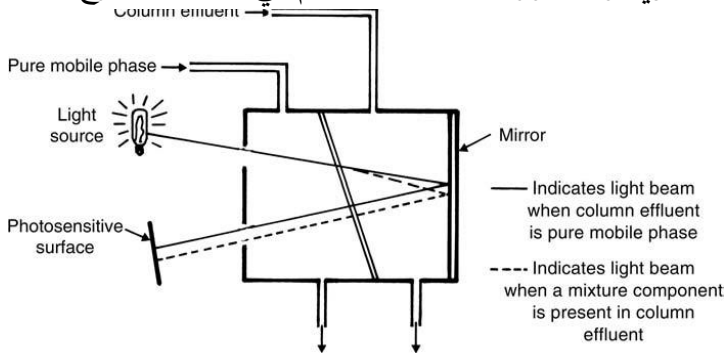
3- مكشاف التفلور: يشبه مكشاف الأشعة فوق البنفسجية ما عدا ان الانبوب الضوئي المضاعف PMT يوضع على زاوية 90º بحيث يقيس الأشعة الصادرة عن الانبعاث فقط. ويتمتع هذا المكشاف بحساسيته العالية وقدرته على تحليل المركبات المتفلورة. من مكوناته مصدر ضوئي واداة اختيار الطول الموجي وغرفة لوضع النموذج والتي تكون متحركة وكشاف انبوب ضوئي يسجل شدة التفلور للمركبات المنفصلة كما مبين في الشكل (20-9). من محاسنة هي الانتقائية والحساسية العاليتين وحدود الكشف الواطئة ولكنة غير شامل لكل المركبات، فقط للمركبات التي تنتج تفلور. والمواد التي يمكن الكشف عنها هي ادوية أو مواد طبيعية أو طبية أو مشتقات بترول. واذا كان المركب ليس له خاصية تفلور نعمل له derivitization بمفاعلة النموذج مع كاشف بتفاعل سريع وآني لنحصل على مركبات لها خاصية التفلور مثل تفاعل حامض الكربوكسيل مع نفاسايل بروماید ينتج مكب يمتص بقوة في المنطقة المرئية وفوق البنفسجية.





شكل (21- 9) مخطط لمكشاف التفلور

4- مكشاف معامل الانكسار. يعتمد هذا المكشاف على ان سرعة الضوء في اي وسط هي اقل من سرعته في الفراغ. وتكون قيمة معامل الانكسار اقل من 1 والجهاز الخاص لقياس معامل الانكسار يسمى مقياس الانكسار refractameter. ان هذا الجهاز يكون ناجح جدا في التحليل النوعي لان من النادر نجد سائلين لهما نفس معامل الانكسار. ومن خواص هذه التقنية في HPLC والاكثر شيوعا يصمم الجهاز على ان يمر المحلول المار خلال العمود والطور المتحرك النقي الذي يعمل كمرجع خلال خليتين ثم إلى المكشاف كما موضح في الشكل. ويقوم المكشاف برسم قمة للمادة المارة عبر العمود مقارنة بخط الصفر للمحلول النقي. من محاسن هذا المكشاف هو انه شامل لجميع المواد تقريبا ولكن مساوية ليس حساس جدا ويتاثر بالحرارة كما انه لا يستخدم في الفصل المتدرج.



شكل (21- 10) مكشاف معامل الانكسار

5- مكشاف التوصيلية conductivity detector

هو احد المكشافات الكهروكيمياوية واكثرها استخداماً ومفيد بشكل خاص لكروماتوغرافيا التبادل الايوني وكروماتوغرافيا الايوني IC، ويستخدم هذا النوع من المكشافات عندما تكون المادة المراد تحليلها هي في الحالة الايونية وتكون موصلة للتيار الكهربائي كما موضح في الشكل. في الوقت الحاضر اصبح مكشاف التوصيل يستخدم بشكل مكثف في HPLC بعد اكتشاف المواد المثبطة أو المخمدة للايونات suppressors. والمثبط عبارة عن عمود قصير يوضع في طريق مجرى المحلول بعد العمود مباشرة ويعبأ فيه مادة راتنجية للتبادل الايوني وتقوم هذه المادة بازالة الايونات الغير المرغوب بها مثل ايونات Ca^{2+} وCO_3^{2-} واستبدالهما بايونات H^+ وOH^- والتي بدورها تتفاعل لتكون الماء الخالي من الايونات. ان المثبط يكون انتقائيا لازالة الايونات من الطور المتحرك فقط.

6- مكشاف قياس التيار الكهربائي amberometric detector

ان قياس التيار الكهربائي في خلية تتكون من ثلاثة اقطاب الاول قطب مرجعي والثاني قطب عمل وقطب ثالث مساعد وان قطب الكشف أو العمل مصنوع من الكاربون أو الزجاج أو البلاتين أو الذهب والقطب المساعد مصنوع من الفولاذ المقاوم للصدأ. ونبدا بزيادة الفولتية حتى نحصل اكسدة واختزال لمكونات النموذج ويتم بعد ذلك قياس تيار الاكسدة التي يقابله اشارة مسجلة تظهر على المسجل أو وحدة التكامل. من محاسن هذا المكشاف تطبيقاته الواسعة للمركبات الايونية والتساهمية وكذلك المركبات القابلة للاكسدة والاختزال عند جهد فولتية استقطاب صغيرة اضافة إلى الانتقائية والحساسية الجيدتين. وقد يكون افضل من مكشاف الأشعة فوق البنفسجية ولكن لا يكون افضل من مكشاف التفلور. من مساوئ هذا المكشاف هو ان قطب الكشف أو العمل يحتاج إلى تنظيف مستمر نتيجة الترسبات على سطحه خلال الاستعمال. وطريقة اخرى يمكن متابعة استقطاب المادة بواسطة تقنية البولاركرافي حيث يتناسب ارتفاع التيار مع تركيز المادة لذلك يعطي معلومات كمية وكذلك يعطي معلومات نوعية حيث كل مادة لها E^o معين أو $E_{1/2}$ جهد نصف الموجة خاص لكل مادة. اذا طورنا خلية كهروكيمياوية إلى HPLC من هذا النوع ووضعنا لها فرق جهد مناسب نحصل على اشارة تتناسب مع تركيز ونوع المادة. ويعتبر هذا المكشاف ذو انتقائية عالية لان كل مركب له جهد تاكسدي معين خاص به.

7- مكشاف مطياف الكتلة mass spectrometric detector

تاخر تطور هذا النوع من المكشافات MS عن ما هو في GC لانه ليس هناك مشكلة لكون حجم الغاز صغير ولن يؤثر. ولكن في LC تكون العينة عبارة عن سائل وعندما

يتبخر إلى غاز يحتل حيز كبير ويصنع vacuum ومن هذا المبدأ ان هذا النوع لا يستخدم مع HPLC لكونه ولاسباب مختلفة يعمل تحت ضغط واطيء لذلك يجب تحويل السائل من الضغط العالي والحجم الكبير إلى ضغط واطيء والحالة الغازية باستخدام تقنية الرش أو البخ thermospray. في هذه التنقية ان المادة التي تخرج من العمود على شكل رذاذ ناعم تمر خلال نبوب رفيع مسخن ذات قطر صغير مع ملاحظة ان جزيئات المادة مستقرة حرارياً، اذ تتأين أولاً بوجود ملح ذائب. وينتقل جزء من الرذاذ إلى مطياف الكتلة. ان المادة المراد تحليلها مع الطور المتحرك يجب ان يكون كلاهما قطبيا.

8- مكشاف أشعة ما تحت الحمراء FTIR Detector

يستخدم هذا المكشاف في كروماتوغرافيا الغاز كما انه يستخدم في كل انواع كروماتوغرافيا السائل. ان هذه التقنية تستخدم اكثر ما يمكن للسوائل وذلك للسرعة التي يقدمها FTIR، اذ يقوم بتسجيل الاطياف لمزيج من المركبات عندما تنفصل ويقوم بتصويرها وتحليل نتائجها نوعيا. ان الأشعة ما تحت الحمراء مهمة جدا للمحاليل الغير مائية والتي غالبا ما تستخدم في HPLC.

التحليل النوعي والكمي في HPLC

يستخدم HPLC في التحليل الكمي والنوعي كما في GC. وتحت ظروف معينة من طور متحرك ومستقر وسرعة جريان وطول العمود وبوجود حجم صفر dead volume للمادة المرجعية تنتج قمة ناتجة بزمن احتجاز معين يعود للمادة المراد تحليلها وكانه تشخيص للمادة المفصولة. وقياس مساحة هذه القمة يعطي كمؤشر عن كمية المادة المفصولة. واستخدام الصمام اللولبي في عملية الحقن نتحاشى فقدان جزء من النموذج بعد حقنها من اعلى القاعدة المطاطية تحت ضغط عالي ولابد ان يمتلىء اللولب في كل حقنة ليعطي حجم ثابت. وان الطريقة الكمية الشائعة في HPLC هي تحضير سلسلة من المحاليل القياسية بدون اضافة محلول قياسي داخلي.

مشاكل العمل في HPLC

1- وجود ضغط عالي غير طبيعي: سبب الضغط العالي هو انسداد في مسار الطور المتحرك بما فيها المرشحات أو وجود انسداد في منطقة الحقن ولعلاج هذه الحالة رفع جريان السائل وتنظيف المرشحات بمحلول حامض النتريك في حمام فوق الصوتي. أو

يحصل عكس ذلك هبوط في الضغط وسببه التسرب في النظام لذلك يجب التاكد من جميع التوصيلات.

2- حصول تسرب في النظام وسببه وجود خلل في الاجزاء الداخلية للمنظومة من صمامات ومرشحات أو خطا في عملية ربط الاجزاء أو كسر خلية الجريان.

3- تاثير فقاعات الهواء: تسبب الفقاعات الهوائية إلى تذبذب الضغط وبالاتي يؤثر على زمن الاسترجاع أو حصول تذييل وانقسام الكروماتوغرام لذلك يجب طرد هذه الفقاعات.

4- وجود قنوات في العمود: وهو ناتج من التعبئة الغير جيدة للعمود ويسبب حدوث انقسام في الكروماتوغرام وفي هذه الحالة استبدال العمود.

5- انخفاض زمن الاحتجاز وسببه وجود مشاكل في المنظومة أو في مكونات المزيج فاستخدام أعمدة حراسة قد تفيد. أو يحصل بطيء في فصل المكونات فمن الضروري تنظيف العمود أو استبداله.

اسئلة الفصل الحادي والعشرون

1- قارن بين HPLC والعمود المفتوح من حيث:

a- مادة الطور الساكن.

b- القوة التي تدفع الطور المتحرك.

c- التحليل الكمي لتكملة الفصل.

2- اشرح اتساع الطبقة في HPLC.

3- لماذا نطلق وصف عالي الكفاءة على HPLC.

4- اشرح باختصار تحرك الطور الناقل من حوض المذيب إلى خروجه من الجهاز.

5- ما الاسباب التي تجعل الخط الاساس يتذبذب في HPLC.

6- ما السبب الرئيسي لارتفاع الضغط في نظام السريان في HPLC وكيفية معالجته.

7- لماذا يكون كاشف امتصاص الأشعة فوق البنفسجية uv detector غير شامل.

8- ما لفرق بين تقنية الشطف الايزوكراتك وتقنية الشطف التدرجي.

الفصل الثاني والعشرون
طريقة الفصل بالترحيل الكهربائي Electrophorsis

الترحيل الكهربائي أو الهجرة الكهربائية

تتعلق حالة السوائل الغروية إلى حد كبير بتأثير المجال الكهربائي الخارجي، وذلك نظرا لوجود شحنة كهربائية عند الجسيمات الغروية. وتأخذ حركة جسيمات المادة الغروية في المجال الكهربائي اتجاها غالباً، اذ تبدأ بالإنتقال نحو ذلك الإلكترود الذي تختلف شحنته بالإشارة عن شحنة الجسيمات. ولقد أطلق على هذه الظاهرة اسم الهجرة الكهربائية أو الهبوط (cataphoresis).

لا تحدث تحت تأثير المجال الكهربائي حركة لجسيمات الغروية باتجاه أحد الإلكترودات فحسب بل وأن الأيونات المشحونة بشحنة معاكسة والمتمركزة في المحلول حول جسيمات المادة تنتقل أيضا ولكن في الاتجاه المعاكس أي نحو الإلكترود الآخر. وعلى هذا يبدو وكأن الأيون الغروي قد تفكك اذ ان القسم المركزي فيه – أي الجسيم – يتحرك باتجاه بينما تتحرك الأيونات المحيطة به باتجاه آخر. وبالرغم من ذلك فإن الجسيم لا يتخلى عن الطوق الأيوني التكافؤي المحيط به، وذلك لأن حركته في المحلول تكون عادة بطيئة جدا اذ ان هذا الطوق الأيوني (الجو الأيوني) يستطيع التجدد دوما من الأيونات الموجودة في المحلول.

وبما أن الأيونات فقط تتجه نحو أحد الإلكترودين وتتجه نحو الإلكترود الآخر، بالإضافة إلى الأيونات، نوى المادة الغروية التي تجذبها معها هذه الأيونات والأكبر منها بالكتلة لذا فإن كميات المادة المتجمعة على الأنود وعلى الكاثود ليست متساوية أبدا.

اكتشفت ظاهرة الهجرة الكهربائية من قبل ف. ريس (1807) الذي أثبت أن جسيمات الطين في الماء تتحرك تحت تأثير تيار ثابت باتجاه الإلكترود الموجب أي أنها مشحونة بشحنة سالبة.

تستخدم الهجرة الكهربائية في الصناعة من أجل نزع الماء وتنقية الطين وفي فصل الماء من البترول واستخلاص الكاوتشوك من المستحلب الطبيعي اللثي (latex) وفي عمليات دعاية الجلود وغيرها.

تشبه ظاهرة الأزموزية الكهربائية الهجرة الكهربائية. وتطلق هذه التسمية على حركة السائل خلال الأنابيب الشعرية ومسام الحجاب الحاجز أو خلال رواسب مؤلفة من جسيمات دقيقة جدا. وتحدث هذه الحركة تحت تأثير فرق جهود خارجي.

وتعتبر طريقة الهجرة الكهربائية من احدى طرائق الفصل الذي يتم فيه فصل مكونات النموذج الذي يحتوي على دقائق مشحونة في الحالة الايونية أو الجزيئية وكذلك العوالق الغروية، وهي طريقة صالحة جدا لفصل البروتينات والاحماض النووية من خلال تحضير خلية على شكل حرف U ولكن هذه الطريقة يحصل فيها فصل جزئي غير كامل والسبب في ذلك لان كل الايونات الموجبة والسالبة موجودة في المحلول ولهذا تم ابتكار طريقة محدثة تدعى Zone Electrophorsis وتتلخص هذه الطريقة بأخذ محلول الكتروليتي متساوي في الحجم وله نفس الـ pH ويحتوي على حامل يحتوي على موضع لدخول النموذج بوجود اقطاب مصنوعة من الكاربون أو البلاتين.

المحلول الالكتروليتي

عبارة عن بفر مثل الفوسفات أو الخلات

- فائدة الاقطاب هي عملية النقل الكهربائي عند تسليط جهد كهربائي.

يمكن معرفة ميكانيكية طريقة Zone electrophoresis كما يلي:

$$\Theta = q^{\pm}/6\pi r\eta$$

اذ ان:-

Θ = التنقلية الايونية mobility

$q^{\pm}$ = شحنة الدقيقة المشحونة

r =نصف قطر الدقيقة المشحونة

η = لزوجة المحلول الالتروليتي أو محلول بفر

تختلف الدقائق عن بعضها البعض لذلك يمكن فصلها وكلما تكون المسافة اكبر تكون سهلة الفصل حسب العلاقة الاتية:

$$S= \Theta Et/L$$

اذ ان: S = المسافة المقطوعة من قبل الدقيقة المشحونة

E/L= تدرج الفولتية، L = طول الحامل

E= الفولتية، t= الفترة الزمنية الازمة للتحليل

اذ ان عملية الفصل تجري طبقا للمعادلة العامة الاتية:

$$\Delta S=S_A-S_B=\Theta_A-\Theta_B*tE/S$$

كلما كان الفرق بين Q اعلى يزداد يقابله عامل فصل اكبر وكلما زادت اصبحت كفاءة الفصل افضل (تزداد قيمة ΔS).

- العوامل التي تؤثر على عملية الفصل:

• المعادلة اعلاه تحدد مدى الفصل حيث كلما زاد تدرج الفولتية tE\L كلما كان اعلى وبالاتي يكون الفصل افضل.

نلاحظ من خلال المعادلة اعلاه ان الفولتية تتناسب طردي مع S اذن عندما ترتفع الفولتية سوف تتولد حرارة تسخن المحلول الالكتروليتي وربما يتغير التركيب ومن ضمنه البفر لذلك نحتاج إلى جهاز تبريد لتفادي الحرارة.

• الزمن time يؤدي إلى توسع القمم اي تحصل عملية انتشار للحزم وتداخل بعضها مع البعض الاخر عندما تزداد الفترة الزمنية.

هناك عوامل اخرى تؤثر على عملية الفصل بطريقة الانتقال الكهربائي وهي:

• درجة التأين: اختيار الالكتروليت أو محلول بفر اختيار (pH بعبارة اخرى نحصل على دقائق تحتوي على شحنة).

$HoAC + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + OAC \; pK_a = 4.76$

درجة التأين عند قياس pH له تساوي 4.76 اذا كانت pH=3 اي ان درجة التأين قليلة وفي تجربة اخرى اذا كانت pH = 6 فأن التفاعل يزداد وعند الوصول إلى pH = 8 فأن الحامض يتأين 100% اذن التأين يتناسب مع pH لكي يحصل التحليل يجب اختيار pH المناسب لكي يعطي الايونات الموجبة والسالبة.

• **تركيز المحلول الالكتروليتي:**

يجب ان يكون التركيز الالكتروليتي قليل لانه كلما يزداد التركيز الالكتروليتي سوف يعرقل الدقائق المشحونة –اعاقة– مما يؤدي إلى تصادمها وقلة حركتها. وبعض الحالات عند زيادة التركيز عند حد معين تزداد التنقلية مما يؤدي إلى تكوين نوع من الفولتية E هذا الجهد يسمى جهد potential Zeta ولكن في الحقيقة هذا الجهد غير مرغوب فيه لانه في عملية الانتقال الكهربائي يؤدي هذا النوع من الجهد إلى تداخلات، اي يبدأ بسحب الدقائق المشحونة وتسمى هذه العملية **بالتناضح** اي انتقال المواد غير المرغوب بها لذلك يجب ان يكون المحلول الالكتروليتي محدد.

ملاحظة: لوكان لدينا مواد غير مشحونة مثل الكاربوهيدرات في هذه الحالة نحول الجزيئات إلى معقدات تحتوي شحنة مثلا نضيف بفر حامض البوريك واملاح البورات، فأيون البورات يتحد مع جزيئات الكاربوهيدرات وتتكون معقدات تحمل شحنة وبالاتي يتم فصلها على اساس درجة تفكك المعقد نفسة.

ان تقنية الترحيل الكهربائي هي تقنية لفصل وتحليل المواد حسب معدل حركتها تحت تأثير المجال الكهربائي، اذ يتكون الجهاز من:-

1- وعاء زجاجي يحتوي على محلول الكتروليتي يغمر فيه قطبان احدهما يعمل كأنود والاخر كاثود.

2- مجهز قدرة (Power supply) يتراوح من (0-30KV).

3- وسط لنقل التيار الكهربائي بين الانود والكاثود ويكون أما انبوبة شعرية أو شريحة من الجلاتين.

4- الكاشف detector ويضع قرب غرفة الكاثود لرصد اي مكونة ترحل نحو الكاثود

الترحيل الكهربائي موضوع ذو درجة عالية من التعقيد كما ان سعر الجهاز مرتفع مقارنة مع الجهز الكلاسيكي في اكثر المختبرات بدأ (CE) الترحيل الكهربائي الشعيري ليحل محل HPLC اذ لـ (CE) صفات مهمه:

- يعطي قدرة عالية على الفصل high resolution.
- لا يولد مذيبات متطايرة مما يحل مشكلة التخلص منها في HPLC.
- في HPLC يحتاج إلى صنع طور متحرك داخل الجهاز بينما (CE) لا يحتاج إلى ذلك انما المواد تكون في حوض ومحاليل منظمة تتحرك داخل انبوب شعيري وتتجه نحو الاقطاب المعاكسة وتحتاج إلى مكشاف uv في نهاية احد اطراف الانبوبة الشعيرية ويعطي قيم منفصلة.

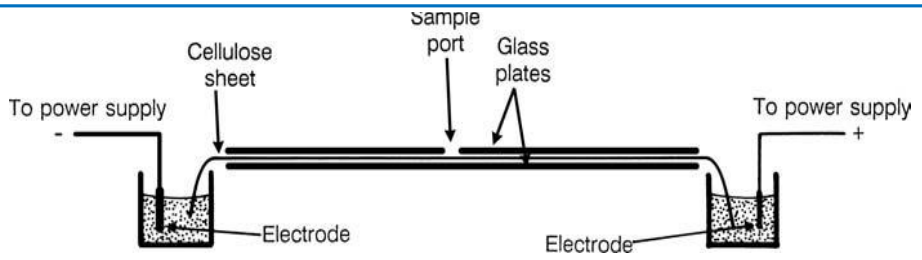
هناك عدة أنواع يتم فيها فصل المكونات في هذه التقنية منها:-

1- الترحيل الكهربائي ذو الورقة paper electrophoresis

2- الترحيل لكهربائي ذو الشريحة الجيلاتينية (Gel electrophoresis)

3- الترحيل الكهربائي ذو الانبوبة الشعرية (Capillary electrophoresis)

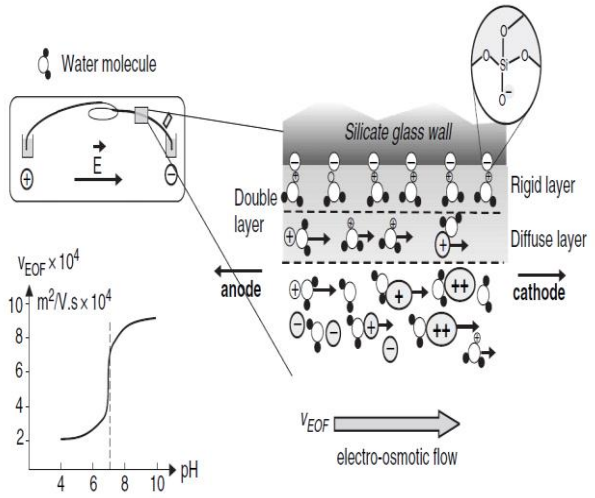
أولا: paper electrophoresis: يكون بسيط ويتكون من قطعة صغيرة من ورقة ترشيح قابلة للامتصاص وتغمس في محلول بفر اذ يقوم البفر بنقل التيار الكهربائي ويوضع في وعاء زجاجي أو بلاستيكي يجتوي على قطب انود أو كاثود وتستخدم هذه الطرقة لفصل الاحماض الامينية والببتيدات والشكل(21-1) يبين ذلك.



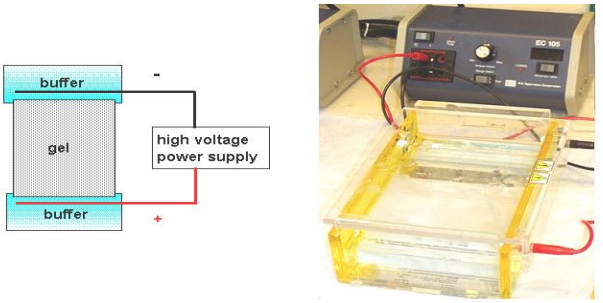
شكل (22- 1) جهاز الترحيل الكهربائي ذات الورقة

ثانيا– الترحيل الكهربائي ذو الشريحة الجلاتينية: الجل مكون من مادة الاكار وهي مادة مأخوذة من نباتات بحرية ويتم عمل شريحة الاكار عن طريق اذابة مادة الاكار في محلول منظم وتسخينه حتى يصبح المحلول صافيا تماما ومن ثم صب الاكار في اناء خاص حتى يبرد مما ينتج عنة مادة جيلاتينية مرنة يتم استخدامها في عملية الفصل فاثناء عملية الفصل توضع الشريحة الجيلاتينية داخل وعاء يحوي محلول منظم وفيه قطبان قطب سالب وقطب موجب يتم تحليل العينات عن طريق وضعه في فتحات خاصة في الجل ومن ثم دفعة للامام بوساطة المجال الكهربائي كما موضح في الشكل (21-2) والشكل (21-3) اذ تتأين Silanol إلى Silanoates عند pH مساوي إلى 3 تحت هذه الظروف تتكون طبقة من متعدد الكاتيون وتنظم نفسها على طبقتين بحيث تكون احد الطبقتين ملتصقة بالجار الداخلي للعمود والاخرى متحركة وبين هذه الطبقتين يتولد جهد يدعى Zeta Potential ويعتمد هذا الجهد على تركيز الالكتروليت والدالة الحامضية pH اذ كلما قل Zeta Potential كلما زادت سرعة الايونات المهاجرة.

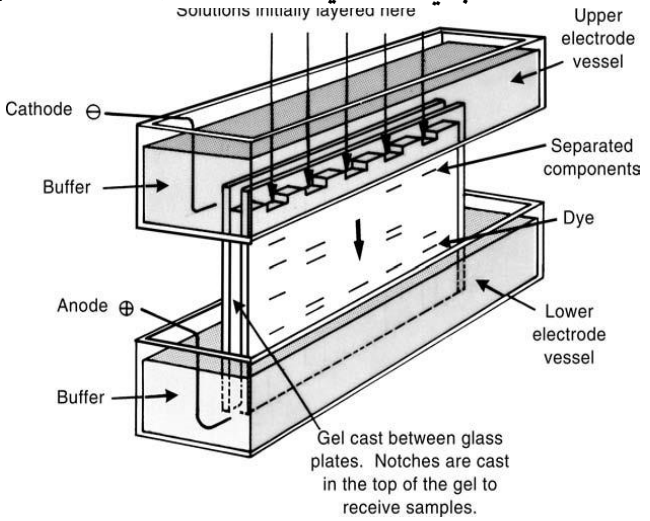
ويمكن معرفة أفضل pH يحدث به الهجرة وذلك من خلال أخذ سلسلة من المحاليل ذات pH متغيرة مقابل سرعة الجريان الازموزي υ_{EOF} اذ نلاحظ ان السرعة تزداد ببطء ثم تكون هناك زيادة حادة يؤخذ منتصف الارتفاع اذ يمثل افضل pH كما في الشكل (12-2).



شكل (22- 2) التدفق الالكترو– ازموزي للعينة فى المجال الشعري.

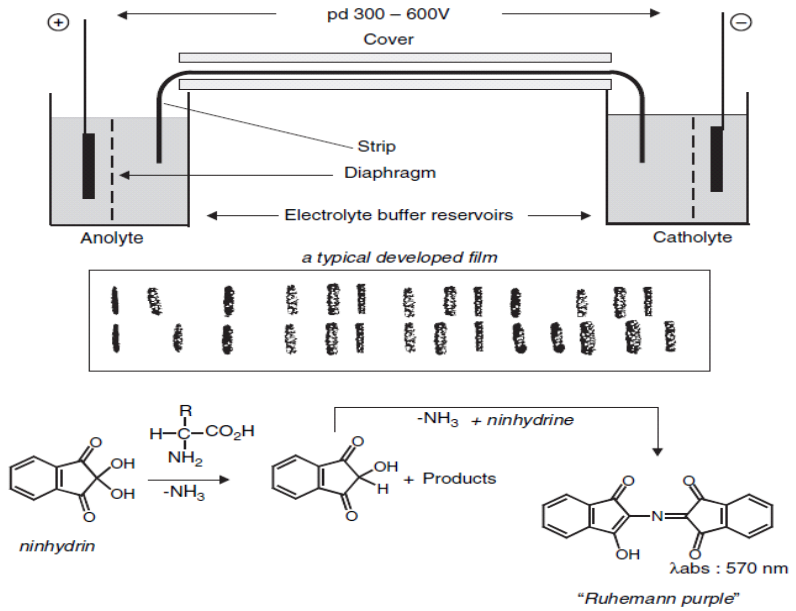


شكل (22- 3) خلية الترحيل الكهربائي ذو الشريحة الجيلاتينية (Gel electrophoresis cell)



شكل (22- 4) مخطط لجهاز الترحيل الكهربائي ذو الشريحة الجيلاتينية.

ثالثا– الترحيل الكهربائي ذو الانبوبة الشعرية: تحتوي على البفر يقوم بنقل التيار الكهربائي ويجب ان يكون مستقر اتجاه النموذج وأحيانا توضع الانبوبة الشعرية في oven لتثبيت درجة الحرارة والتحكم في أفضل وقت للهجرة وتمتاز الانبوبة الشعرية بأن قطرها الداخلي صغير وبالاتي يساعد في تقليل التسخين إلى مستوى قابل للاهمال وهذا يساعد في امكانية استخدام مجال كهربائي عالى، اذ يساعد على فصل المواد بسرعة كما فى الشكل الاتى:



شكل (22- 5) مخطط جهاز الهجرة الكهربائية المستوي Schematic of a horizontal electrophoresis apparatus

الهجرة الكهربائية بالانابيب الشعرية والكروموتوغرافي الكهربائية

Capillary electrophoresis and electrochromatography

الهجرة الكهربائية بالانابيب الشعرية CE طريقة فصل حساسة جدا تم تطويرها بشكل كلي خلال الخبرة المكتسبة من تنقية HPLC أو TLC ومن طرائق الهجرة الكهربائية ان الجزيئات ذات الطبيعة البايلوجية والمركبات ذات الكتل الجزئية الواطئة يصعب دراستها بواسطة تقنية HPLC والطرق الكلاسيكية للهجرة التي يستخدم مادة جلاتينية Slab gel امكن فصلها بواسطة تقنية (CE) ومن الان فصاعدا الهجرة الكهربائية بالانابيب الشعيرية عالية الاداء (HPCE) حلت محل التقنية باستخدام الجلاتين تميزت (CE) من قبل الوكالات العالمية مثل (FDA) والـpharmacopeia اذ يستخدم التحليل الكمي.

(CEC) طريقة فصل جيدة اذ تربط الكفاءة العالية للفصل لتقنية (CE) مع تقنية HPLC.

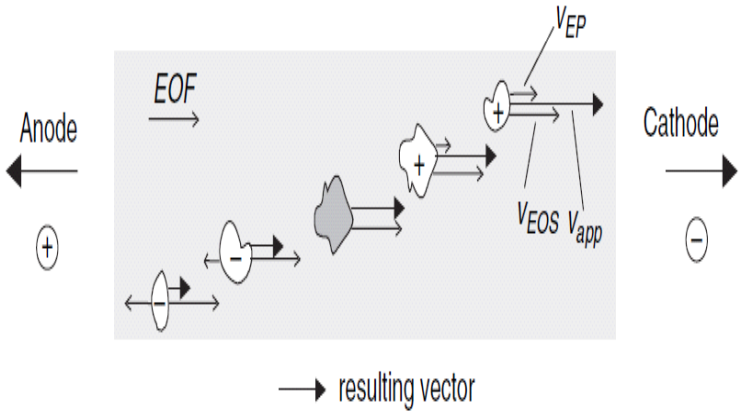
تعتمد الهجرة على عدة عوامل:

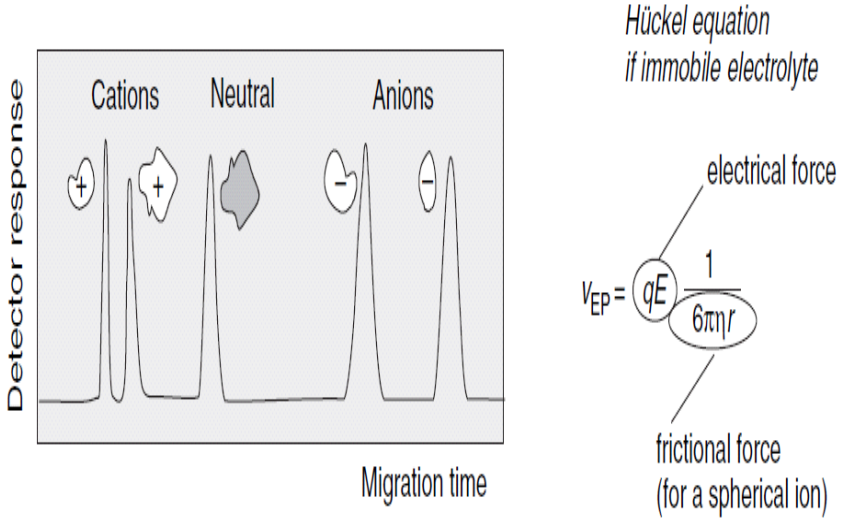
- الشحنة charge.
- الحجم Size.
- الشكل Shape.
- الحرارة Temperature.
- لزوجة الالكتروليت Viscosity.

العلاقة بين التدفق الازموزي والتناقلية في الترحيل الكهربائي

Electrophoretic mobility and electro- osmotic flow

ان الدقائق العالقة في السوائل تشبة الجزيئات الممذوبة والتي بأستطاعتها حمل الشحنات الكهربائية، ان اشارة وحجم الشحنة تعتمد على طبيعة الفصائل التي تكون مرتبطة بالوسط الكهربائي وتكون متأثرة بـpH والمخطط التالي يبين العلاقه بين التدفق الازموزي والتناقلية :

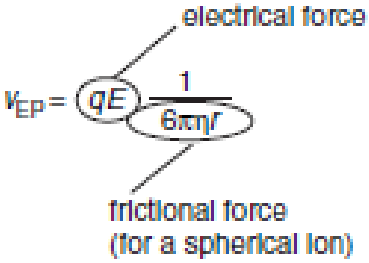




شكل (22- 6) معادلة هوكل مع الكتروفيروكرام

ان صافي الشحنة مصدرها من سطح الدقيقة أو الايونات الموجودة في المحلول الالكتروليتي المنظم وتحت ظروف متعددة وتأثيرات متوالية، درجة الحرارة، اللزوجة والفولتية. وان هذه الدقائق تمتلك سرع هجرة مختلفة وكلما كانت الجزيئة حجمها صغير وشحنتها كبيرة تكون اسرع وتعتمد طريقة الفصل على النسبة بين الشحنة إلى الحجم للايون المتميء ،الشكل(22-6).

μ velocity: تنتج هذه السرع من حالة التوازن بين القوة الكهربائية F وهي مسلطة في مجال كهربائي E وتؤثر على شحنة الدقيقة q والقوة الناتجة من لزوجة المحلول Π اما الجزيئات المتعادلة تكون صعبة الفصل الا اذا اضيف إلى المحلول كاشف امنيوني يستطيع ان يفكك الجزيئة ويحولها إلى ايونات وقد افترض Huckel معادلة تأخذ بنظر الاعتبار تأثير هذه العوامل على سرعة الهجرة الكهربائية للايون الذي يعتبر كرة نصف قطرها r وتؤثر على الفصائل المشحونة في النموذج.



اذ ان υ_{Ep} حركة النموذج المشحون نحو الاقطاب المتعاكسة، qE: القوة الكهربائية.
المكونات المشحونة الموجودة في النموذج تتأثر بعاملين رئيسيين هما:

- قابلية الحركة للترحيل الكهربائي Electrophoretic mobility.
- تأثير التدفق الازموزي Electro osmatic flow (EOF).

Electro phonetic mobility- electro migration

ان المركب الذي يحمل شحنة كهربائية هو الذي يتحرك داخل الالكتروليت ونفترض انه غير قادر على الحركة عند سرعة υ_{EP}(mis) والتي تعتمد على ظروف التجربة وقابلية الحركة اثناء التحميل VEP بالنسبة لايون معين ووسط معين تعتبر ثابتة وتكون تشخيص لهذا الايون وهذا المتغير يعرف من معرفة سرعة الهجرة لذلك المركب والمجال الكهربائي المسلط بأستخدام المعادلة.

$$\mu_{EP} = \frac{\upsilon_{EP}}{E} = \upsilon_{EP}\frac{L}{V}$$

اذ ان = μ_{Ep} معدل السرعة للايون المراد تقديره
υ_{Ep}= حركة النموذج المشحون نحو الاقطاب المتعاكسة
L = طول الانبوب الشعيري الكلي يقاس بـm.
V = الفولتية المسلطة عبر نهايتي الانبوب.

وتعطي اشارة موجب أو سالب إلى حركة الهجرة الكهربائية حسب طبيعة الايون الموجب أو السالب للمكونات يكون μ_{EP} مساوي إلى الصفر لجميع المكونات المتعادلة μ_{EP} يمكن الحصول عليه من رسم الترحيل الكهربائي وذلك بحساب قيمة υ_{EP} للمركب وفي مجال كهربائي معلوم E(v/m) اخذين بنظر الاعتبار سرعة الالكتروليت، اذ هذا المتغير لا يعتمد فقط على الشحنة المحمولة بواسطة المكونات بل يعتمد كذلك على قطر ولزوجة الالكتروليت.

الجريان الازموزي الكهربائي (Electro osmotic flow)

العامل الثاني الذي يسيطر على هجرة المادة المذابة هو الجريان الازموزي الكهربائي وهذه الحركة الانسيابية سببها وجود هجرة أو ترحيل كهربائي لكل المادة الالكتروليتية مرورا خلال الانبوبة الشعرية فأذا كان لدينا مادة جلاتينية فأن هذا الجريان سوف يكون صغير لكنة في الهجرة الكهربائية الشعيرية يصبح اكثر اهمية لان الجدار الداخلي للانبوب الشعيري يساعد على ذلك ويسمى هذا النوع من الجريان بالحركة الازموزية الكهربائية μ_{Eos} وتكون مساوية إلى سرعة الالكتروليت.

$$\mu_{EOS} = \frac{\upsilon_{EOS}}{E} = \upsilon_{EOS}\frac{L}{V}$$

اذ ان μ_{Eos} = معدل الجريان الازموزي، υ_{Eos} =حركية الجريان الازموزي.

ولغرض حساب μ_{EOS} فيجب تعيين سرعة υ_{EOS} وهذه السرعة تقابل سرعة الالكتروليت من غير شحنة وهذا يمكن حسابة بقياس زمن الهجرة بأخذ مادة تسمى دليل neutral marker اذ يوضع في نفس وعاء التحليل وتقاس المسافة التي يقطعها داخل الانبوب الشعيري ونطبق عليه المعادلة اعلاه.

مادة الدليل: عبارة عن جزيئة عضوية وغير قطبية عند pH معلوم ويقاس امتصاصها عند uv القريبة ويمكن اختيار الاسيتون أو mestgl oxide أو benzyl alcohol كمادة دليل متعادل.

الأجهزة Instrumentation

الحقن injection لغرض ادخال حجم صغير من النموذج لايزيد عن (1%) من الطول الفعال للانبوبة الشعرية لاجل حماية عملية الفصل resolution تستخدم طريقتان:

- الحقن الهايدروستاتيكي:- يتم ذلك بغمر نهاية الانبوبة الشعرية في المحلول (كمادة الكتروليتية) تحتوي على النموذج مع ايجاد تفريغ صغير عند الطرف الثاني ويمكن تحسين الطريقة بتسليط ضغط بحدود (50mbar) على محلول النموذج.
- طريقة الحقن بالهجرة الكهربائية Electro – migration injection تستخدم هذه الطريقة الهجرة الكهربائية بالجلاتين gel electrophoresis وذلك بوضع النموذج عند جهد كهربائي بقطبية مناسبة مقارنة بالطرف الاخر وغمر الانبوبة الشعرية في هذه المسافة الجلاتينية وتمتاز هذه الطريقة بأنها تؤدي إلى ان النموذج المراد تحليله لا يكون ممثلا لبقية المادة.

ان الحقن بالطريقة الهايدروستاتيكية Hydrostatic injection اقل دقة من الحقن HPLC لان طريقة الحقن هذه لا تستطيع ان تتفاعل مع حجوم صغيرة 5 – 50nl اذ ان الكمية المحقونة داخل الانبوب الشعري تعتمد على المتغيرات هي سرعة الجريان flow rate، نصف قطر الانبوب، طول الانبوب، اللزوجة، الدينماكية للسائل n.

$$F = \Delta P\frac{\pi r^4}{8\eta L}$$

اذ ان F = معدل الجريان (Flow rate)، P = الضغط، r = نصف القطر للمكونة المشحونة، L =طول الانبوبة الشعرية.

ان هذه المعادلة تكشف لنا بأن نصف قطر الانبوب الشعري اذا تضاعف سيتضاعف الحجم الداخل 16 مرة، كذلك يتناسب الحجم طرديا مع (P) وان زيادة طول الانبوب الشعري سيعطي تأثير معاكس لذلك فيجب استخدام مادة قياسية داخلية internal standard لتحسين الاداء الكمي للطريقة.

طرائق الكشف Detection methods:

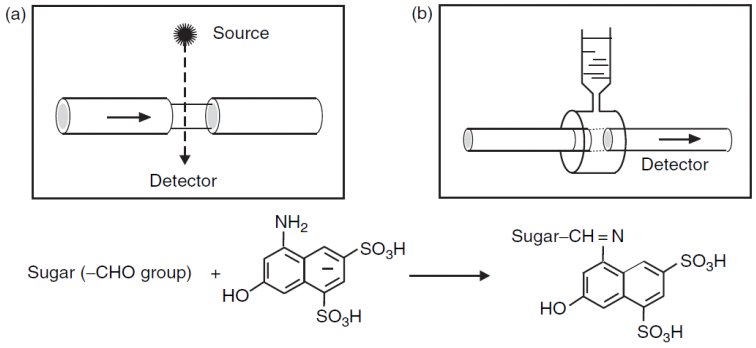
كثير من الطرق التي تكشف عن المواد المراد تحليلها في (CE) تكون مماثلة لتلك المستخدمة في كروموتوغرافي السائل. هناك ثلاث طرائق مهمة:

- كشف بأشعة (uv- vis) يتم ذلك بواسطة كشاف ثنائي الدايود diode array يعطي امتصاصية في منطقة (uv- vis). ويتم انشاء شباك صغير جدا ويتم ايجاده بواسطة مركب poly imide أذا وضع في الانبوب الشعري يمكن ان تمر عليه أشعة uv وتحصل عملية الكشف حيث هذه المادة تمتص أشعة uv المارة عليها.

ان خلية الكشف ستكون جزء رئيسي من الانبوبة الشعرية التي تتجنب وجود dead volume ان أشعة uv اكثر حساسية عندما تستخدم بأطوال موجية قصيرة.

- طريقة الفلورة Fluorescence: تطبق على اشتقاق العينة تستخدم مادة كيمياوية معلمة كيميائيا مادة حاملة للتفلور flurophore وتتم بعد ذلك عملية الفصل اذ ان المصدر الضوئي المستخدم يمر على المادة المراد تحليلها متقدمة إلى شباك الكشف حيث تحتوي المادة على flurophore تمتص أشعة uv فتعطي انبعاث تفلوري بطول موجي مختلف وبذلك تتم عملية الكشف.

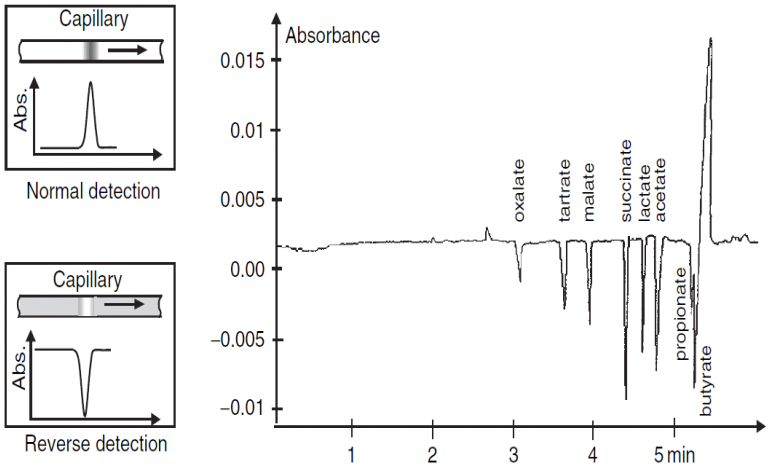
يمكن تطوير حساسية هذه الطريقة باستخدام مصدر ليزر بدل من أشعة uv الشكل(21-7).



شكل (22- 7) كاشف أشعة الفوق البنفسجية مع تحويل السكر إلى مادة فعالة تفلوريا

• كشف بمطياف الكتلة mass spectroscopy: يمكن ان يستخدم مطياف كتلة يربط مع جهاز الهجرة الكهربائية اذ ان المعلومات عن المادة المراد تحليلها في ما يخص الكتل الجزيئية بواسطة مطياف الكتلة ثم جهاز (CE) وتكون المادة المراد تحليلها على شكل الطور الغازي لذلك يضاف جريان سائل خارجي إلى المواد المنفصلة من CE يستخدم M.S بصورة خاصة مع الجزيئات الحياتية ولا يحتاج إلى مادة قياسية

• كواشف اخرى: طريقة كشف غير مباشرة indirect uv في تحليل الايونات غير العضوية التي لا تمتص أشعة uv وبهذه الطريقة تستخدم محلول منظم buffer مثل الكرومات chromate أو فثاليت phthalate التي لها معامل امتصاص عالي تحت هذه الظروف وعندما تتم حركة هذه المواد المراد تحليلها فأن مقدار الأشعة المارة خلال الانبوبة الشعرية تتناقص شدتها بسبب امتصاص هذه المحاليل المنظمة تكون قمم سالبة كما في الشكل الاتي:



شكل (22- 8) فصل الحوامض العضوية بكشاف الفوق البنفسجية الغير المباشر

تقنيات الترحيل الكهربائي electro phonetic techniques

• الهجرة الكهربائية بالانبوبة الشعرية المناطقية Capillary zone electrophoresis (CZE)

في هذه الطريقة تهاجر المادة الالكتروليتية خلال انبوبة شعرية قد اشتهرت هذه الطريقة حديثا اذ ان المواد المراد تحليلها تكون على شكل شريط ضيق أو منطقة صغيرة يحيطها المحلول المنظم الالكتروليتي ويمكن ان يكون هذا المحلول حامضيا مثل الفوسفات أو

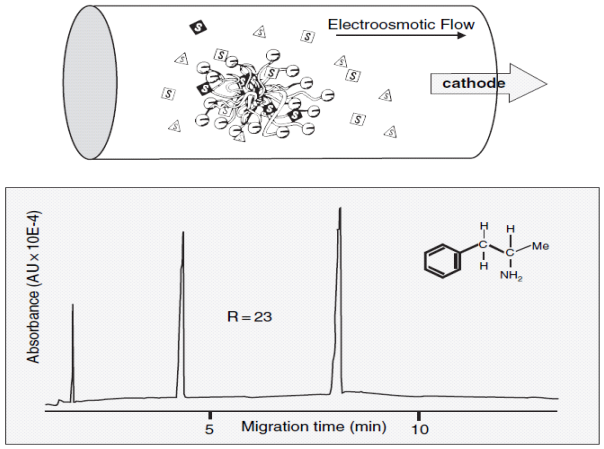
الاسترات، أو ان يكون قاعديا مثل البورات borate أو ان يكون امفوتيري (جزيئة تمتلك خواص حامضية وقاعدية). واساس هذه الطريقة بان المادة المراد تحليلها تزداد حركتها الازموزية حسب pH للطور السائل ويطلق على هذه الطريقة capillary gradianit electrophoresis (CGE) الترحيل الكهربائي الشعري المتدرج.

الكهروحركي لكروماتوكرافيا الشعرية

Micllar electrokinetic capillary chromatography

نوع اخر من CZE وقد تم استخدامها لفصل الجزيئات المتعادلة أو القطبية سواء كانت كايتونية أو انيونية مثلاً sodium dodecyl sulfate وهي تضاف بكمية زائدة إلى المحلول الالكتروليتي التي تكون صفائح مشحونة هذه الجزيئات تشبه فقاعة الصابون تكون غير فعالة للامتزاج مع المحلول immiscible تكون على شكل طور مستقر ظاهرياً pseudo- stationary phase مشابه إلى الطور الثابت المستقر في (HPLC).

تقوم هذه المادة باصطياد الجزيئات المتعادلة بشكل فعال عن طريق اتحاد الجزيئات الطاردة أو المحبة للماء. عندما تذوب داخل الصفائح أو الكريات. تكون هذه التقنية مفيدة جدا في تحليل الجزيئات الكيرالية والتي يتم فيها اضافة مادة سايكلودكستيران cyclodextran كمحلول منظم ومنتجة للجزيئات الكيرالية ويتم فيها النقاوة البصرية وذلك عن طريق تكوين معقدات الاحتواء inclusion comp.



شكل (22- 9) فصل المركبات المتعادلة على سطوح خاصة.

مثال: التشخيص المختبري لمرض الخلية المنجلية:

معظم الطرق نفعا في التشخيص البدائي لخضاب الدم غير الطبيعي هو بواسطة الهجرة الكهربائية Hemoglobin electrophoresis) وأكثرها شيوعا هي تقنية فصل البروتين. الهجرة الكهربائية هي عبارة عن تحرك جزيئات الشحنات في وجود مجال كهربائي مدعوم بواسطة ناقل مناسب, وإن هذا التحرك معتمد على مجموعة الشحنات الصافية من الجزيء. في الشكل(21–10) يوصف الهجرة الكهربائية لبعض خضاب الدم مثل ee، es، ss في وجود الإس الهيدروجوني(pH) 6 و8 . إن عينة الدم توضع في الثقب المحدد في البداية وبعد وقت مناسب من الهجرة الكهربائية في الوسط القلوي, خضاب الدم يتحرك نحو قطب الشحنات الموجبة. كما لوحظ أن خضاب الدم E يتحرك أسرع من خضاب الدم S، وكما في الشكل (21- 10)، فإن هناك عدداً كثيراً من التغاير الإحيائي من أنواع خضاب الدم (أكثر من 180 نوع) بعضهم يتحرك في نفس موقع E أو موقع S.

شكل (21- 10) يوضح الهجرة الكهربائية (Haemoglobin- electrophoresis) لبعض أمراض خضاب الدم الشائعة التي فحصت بواسطة الهجرة الكهربائية خلات السليلوز Cellules acetate اليسار وبواسطة الهجرة الكهربائية Citrate Ager والوسط المتعادل الكهربائية (Isoelectric) بإستخدام الأس الهيدروجوني 5.5 إلى 8.5 لاحظ أن التحليل الغير الجيد في خضاب الدم الجنيني (HbF) بواسطة السيلولوز:

1– الضبط (Control) مع خضاب الدم (Hb- SA, F, S & C)

2– حمل لبتا ثلاسيمياء $HbAATA_2$

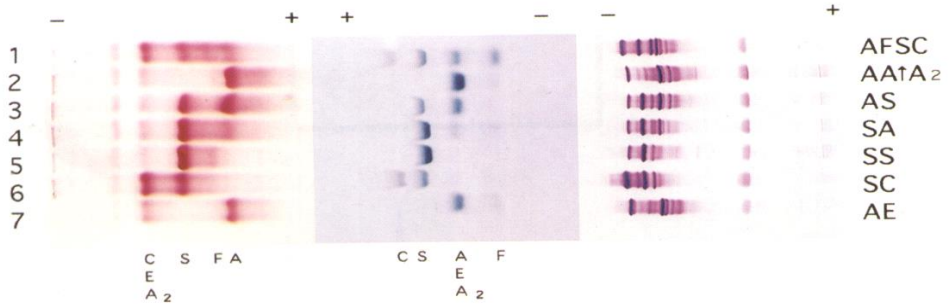
3– حمل خلايا المنجلية HbAS

4 – خضاب الدم HbSA وبتا – ثلسيمياء

5 – فقر الدم المنجلي HbSS

6 – مرض خضاب الدم (HbSC)

7 – حمل خضاب الدم (HbAE)



شكل (22- 10) الهجرة الكهربائية (Haemoglobin- electrophoresis) لبعض أمراض خضاب الدم الشائعة.

وهناك كثير من التغاير الإحيائي لخضاب الدم من سلسة ألفا وسلسلة بيتا والتي تسافر في نفس الموقع من خضاب الدم S في الوسط القلوي للإس الهيدروجوني بسبب انه يوجد لديهم نفس محصلة الشحنة.

خضاب الدم D (البنجاب) واحد من هذه الأمثلة. ولكن هناك عدد كثير من التحاليل التي يمكن أن تحل هذا الإشكال، ويمكن أن يكون خضاب الدم S وأبسط هذه الأشكال هو بتحليل الذائبية لأجل خضاب الدم المنجلى. وهذا التحليل معتمد على قانون أن خضاب الدم المنجلى غير مذيب في الحالة القلوية في وجود محلول الفوسفات المرتفع التركيز. وهذه العينات المحتوية على شكل ظاهري من ES وSS في وجود الهجرة الكهربائية سوف تملك نفس الإيجابية في تحليل المحلول من خضاب الدم المنجلي.

في المقابل خضاب الدم D وخضاب الدم الآخر الذي يتحرك في نفس الموقع من الهجرة الكهربائية سوف يملك السالبية في تحليل المحلول.

انه من المهم لهذا السبب أن ندرك كثيرا من الأخطار والصعوبات في تشخيص خضاب الدم المنجلي وخضاب الدم الآخر غير الطبيعي. مثال ذلك المريض بالخلية المنجلية ومعه أس أس في الهجرة الكهربائية وفي تحليل الإذابة الإيجابية يمكن أن يكون عنده خضاب الدم أس دي أو أس بتا ثلاسيمياء أو واحد من كثير من خضاب الدم الآخر والمتزامنان به.

اسئلة الفصل الثاني والعشرون

1- عرف التناقلية الايونية واذكر العادلة التي تعبر عنها.

2- أوجد العلاقة بين μ_{EOS} وυ_{EOS}.

3- عدد انواع الترحيل الكهربائي مع ذكر تطبيقات كل واحد منها.

4- اشرح تاثير الـpH في التحليل بتقنية الترحيل الكهربائي.

5- اشرح بايجاز اهم الكواشف المهمة التي تستخدم في تقنية الارتحال الكهربائي.

6- ارسم مخطط للترحيل الكهربائي ذات الورقة معمل على اجزاءه.

7- ما العوامل التي تؤثر على المكونات الموجودة داخل النموذج. ثم اشتق معادلة تربط بين هذه العوامل.

الفصل الثالث والعشرون
التحليل الحيوي Bioanalysis

مقدمة:

يتناول هذا الفصل معلومات عن الجزيئات الحيوية الاكثر شيوعا في التحليل البايولوجي في الكيمياء التحليلية الحيوية ويشمل ذلك الكربوهيدرات والدهون والتي تكون متداولة في الكيمياء العضوية اضافة إلى تحليل الاحماض الامينية والاحماض النووية كذلك يتناول تركيب الجزيئات الحيوية وخصائصها الفيزياوية والكيمياوية. وهذه المعلومات تكون مقدمة مهمة في فصل وتحليل هذه الجزيئات الحيوية التي تكون هي الهدف في الطرق التحليلية التي يتناولها هذا الفصل. وهناك اربع مجاميع من الجزيئات ذات الطبيعة الحيوية تشمل:

1- الكربوهيدرات Carbohydrates

2- الدهون lipids

3- البروتينات proteins

4- الاحماض النووية nucleic acids

وهذه الجزيئات الاربعة هي اساسية لاستمرار الحياة وتتواجد في الكائنات الحية وجميع هذه المركبات هي مركبات عضوية وجميعها تحتوي على الكاربون كعنصر اساسي اضافة إلى عنصري الهيدروجين والاوكسجين.

- البروتينات والاحماض النووية وقليل من الدهون تحتوي على عنصر النتروجين. اي ان الخلية تحتوي على 96% من العناصر السابقة الذكر.
- البروتين فقط يحتوي على عنصر الكبريت.
- ولكن الاحماض النووية وبعض الدهون تحتوي على الفسفور.

ومن الملاحظ تواجد القليل من العناصر في الجزيئات الحيوية وجميعها بسيطة وذات عدد ذري اقل من 16.

وتاتي جزيئات البروتينات والحوامض النووية ذات اهمية قصوى في التحليل البايولوجي.

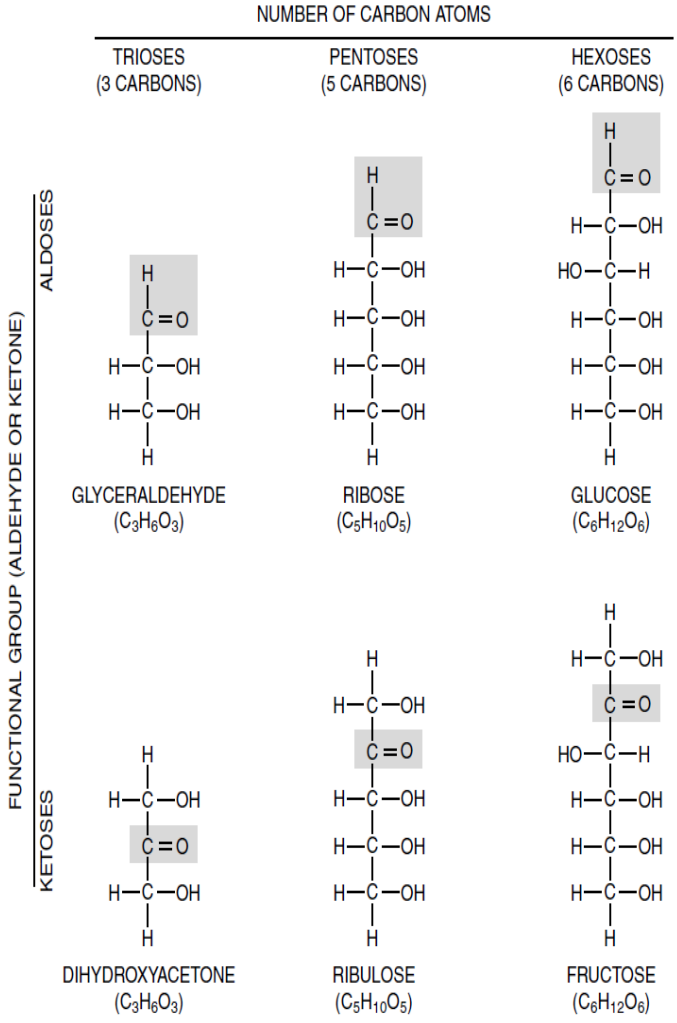
أولا- الكربوهيدرات Carbohydrates

تعتبر الكربوهيدرات بشكلها البسيط كاربون متميأ (hydrates of carbon) وتحتوي فقط على الكاربون والهيدروجين والاوكسجين وتوجد في غذاء الانسان بالاضافة إلى البروتينات والدهون.

توجد ثلاث انواع من السكريات احادية وثنائية ومتعددة.

1- السكريات الاحادية monosaccharaides

وتعتبر اصغر انواع السكريات تمتلك أو زان جزيئية تتراوح (90- 200) ومن الناحية الكيميائية فانها تكون ان الديهايد مثل الكلوكوز والكالاكتوز والرايبوز أو كيتون فهي الرابيلوز والفركتوز. فاذا كانت 3 ذرات كاربون تعنى (Triose) اما اذا 5 ذرات تدعى (Pentose) مثل الرايبوز والرابيلوز اما اذا احتوت على 6 ذرات فتدعى (Hexose) مثل الكلوكوز والكالاكتوز والفركتوز والشكل (23-1) يوضح ذلك.

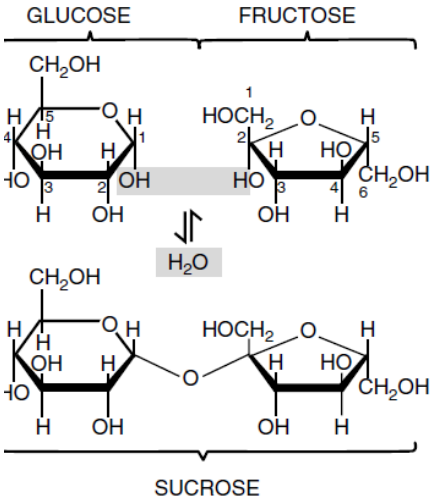


شكل(23-1) السكريات الاحادية ذات السلسلة المفتوحة

ان العمود الفقري في الكاربوهيدرات هي مجاميع الهيدوكسيل وهذه مجاميع قطبية محبة للماء لذلك تكون ذائبة في الماء. تتواجد السكريات الاحادية اما بشكل حلقي تدعى (صيغ فيشر) أو بشكل سلسلة مفتوحة.

ثانيا– السكريات الثنائية disaccharides:

يتركب هذا النوع من السكر من جزيئتين من السكر الاحادي وتكون مرتبطة باصرة مع بعضها البعض تدعى بالاصرة الكلايكوسيدية ايثرية C- O- C بعد حذف جزيئة ماء وتسمى العملية بالتكثيف كما مبين في الشكل(23-2).



شكل (23- 2) عملية التكثيف لتكوين السكريات الثنائية

ان الجزيئات الثنائية تكون محبة للماء وتكون اما من اصل نباتي مثل السكروز (سكر المائدة) أو المالتوز (سكر الشعير) أو من اصل حيواني مثل اللاكتوز(سكر الحليب).

وتتكون السكريات عموما بطريقة التكثيف كالاتي:

سكروز = كلوكوز + فركتوز

لاكتوز = كلوكوز + كالاكتوز

مالتوز = كلوكوز + كلوكوز

ثالثا– السكريات المتعددة polysaccharides

هي السكريات الاكثر تعقيداً وهي عبارة عن بوليمرات ذات سلاسل طويلة ومكونة من وحدات مونمرية (monomer) تدعى الكلوكوز. ان السكريات المتعددة تحتوي على فئات متعددة من المونمرات المنفردة مثل النشأ المتكون من نواتج نباتية وتكون جزيئة كبيرة ومغذية توجد في غذاء الانسان اما السيللوز فيوجد في جدران النباتات ويطلق عليها الالياف

وتكون مواد غير قابلة للهضم ومفيدة لتنشيط حركة الامعاء. ومن الوظائف البايولوجية للكربوهيدرات تزود بالطاقة اذ تزود 55% من الطاقة المزودة لجسم الانسان.

ثانيا- الدهون lipids

من المزايا البارزة للدهون انها تكون كارهه كلياً للماء (hydrophobic) أو تكون كارهه نسبيا اذ تكون من الناحية الكيميائية لا تتداخل مع الماء اي لا تذوب فيه. وتقسم الدهون إلى عدة انواع كل واحد منها ذو تركيب ينفرد به عن الاخر ومن الانواع المألوفة هي:

1- الدهون الثلاثية triacylglycerol
2- الدهون المفسفرة phospholipids
3- الستويدات steroids

الدهون الثلاثية triacylglycerol (TG)

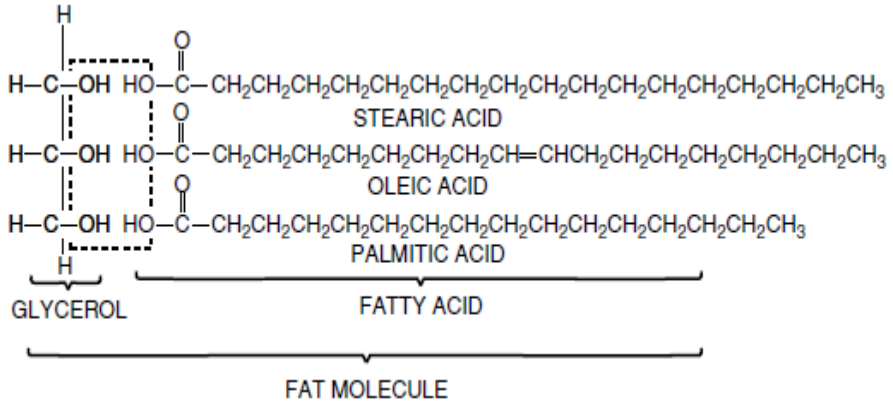
غالبا ما يشار اليها بالدهون والزيوت وتتكون من ثلاث احماض دهنية (fatty acid) مرتبطة بجزيئة كليسرول (عبارة عن جزيئة كحول فيها ثلاث ذرات كاربون كحولية).

الاحماض الدهنية: عبارة عن جزيئات ذات سلاسل كاربون طويلة لها مجموعة كاربوكسيل فعالة ومن امثلتها الشائعة:-

a- حامض الستياريك (stearic acid) ومكون من 18 ذرة كاربون مشبعة

c- حامض أوليك (oleic acid) مكون من 18 ذرة كاربون وتوجد آصرة مزدوجة عند ذرة كاربون رقم 9.

c- حامض البالمتيك (palmitic acid) يتكون من 16 ذرة كاربون مشبعة. والشكل (23-3) يبين الانواع الثلاثة.



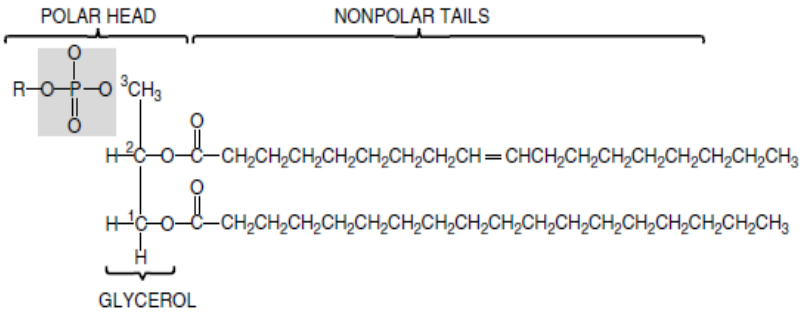
شكل (23- 3) الاحماض الدهنية مرتبطة بالكليسرول

ملاحظة: اكثر الاحماض الدهنية اهمية بايلوجية هي التي تمتلك عدد زوجي من ذرات الكاربون في الهيكل المحوري للسلسلة كما في حامض البالمتيك الذي يحتوي على 16 ذرة كاربون مشبع اي لا يحتوي على آصرة كاربون مزدوجة. والاحماض الدهنية غير المشبعة مثل حامض الاوليك يحتوي على آصرة كاربون مزدوجة (C=C).

جميع الاحماض الدهنية تمتلك نهاية محبة للماء hydrophilic هي مجموعة الكاربوكسيل. عموما عند ارتباطها مع مجموعة الهيدروكسيل في الكليسرول يتكون الدهن الثلاثي TG وتزاح جزيئة ماء كيميائيا وبذلك تكون جزيئاتها ذات سلوك كارة للماء كلياً hydrophobic.

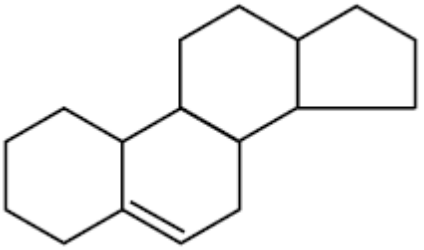
هناك عدة انواع من الدهون الثلاثية مشبعة اي لا تحتوي على آصرة مزدوجة (C=C) ونوع ثاني احادي اللاتشبع اي يحتوي على آصرة مزدوجة واحدة والنوع الثالث متعدد اللاتشبع اي فيه اكثر ذرة كاربون مزدوجة كما في الشكل (22-3). ان درجة عدم التشبع تؤثر على خواص المادة الفيزياوية اذ ان الحوامض الدهنية متعددة اللاتشبع polyunsaturated تظهر كسوائل صفراء والجزيئات المشبعة تكون على هيئة صلبة بيضاء (دهون) وتكون الدهون الثلاثية جزيئات خازنة للطاقة اذ تجهز حوالي 30% من طاقة الجسم.

الدهون المفسفرة:– تتكون من ارتباط جزيئتين من الحامض الدهني مع جزيئة كليسرول مع اضافة مجموعة فوسفات (phosphate) إلى رأس جزيئة الكليسرول وبسبب قطبية جزيئة الفوسفات تظهر الدهون المفسفرة بشكل محب للماء جزئيا. وبسبب هذه الخاصية تكون الدهون المفسفرة مكونة الغشاء البايلوجي، اذ يكون بشكل ثنائي الطبقة يكون الشكل المحب للماء إلى الخارج للاعلى والاسفل ويكون الجزء الكارة للماء الاحماض الدهنية للداخل كما في الشكل الاتي:



شكل (23- 4) مثال على الدهون الفوسفاتية

الدهون الستيرويدية: الدهون الوحيدة المعروفة التي لا تتكون من احماض دهنية حيث تتكون من حلقات كاربون مرتبطة مع بعضها البعض وتتكون من اربع حلقات ثلاثة منها سداسية وحلقة خماسية كما في الشكل (23- 5).



شكل (23- 5) جزيئة دهون الستيرويدية

ومن أمثلتها الكورتزون cortisone التي تعتبر من الهرمونات والكولسترول cholesterol اذ يكون مهم في تكوين غشاء الخلايا الحيوانية.

ثالثا:- البروتينات "Proteins"

تعتبر البروتينات اكثر تعقيدا من الناحية التركيبية حيث تعتبر مركبات متبلمرة ذات حجم كبير (كثير منها ذات وزن جزيئي يزيد عن (100000) لها تركيب ثلاثي الابعاد وتنوع جزيئي هائل في الطبيعة توجد على الاقل 10000 نوع كل نوع ينفرد بخصائصه التركيبية الخاصة به.

الوحدة المتكررة للبروتينات (المونيمر) هي الاحماض الامينية ويوجد عشرين حامض اميني معروف في عشرات الالاف من البروتينات. كذلك البروتينات تحتوي على العناصر الاتي: فقط (C, H, O, N, S). تاريخياً ان ترتيب الاحماض الامينية قد تستخدم لتتبع العلاقات التطورية بين اعضاء الجسم لانها تحتوي على شفرات السلاسل لقاعدة الحامض النووي DNA وعند حصول طفرات وراثية يمكن معرفتها من خلال اختلاف تسلسل الاحماض الامينية.

الاجسام المضادة Antibodies: وهي بروتينات معقدة توجد في جسم الانسان تقوم بوظيفة المناعة ضد الاجسام الغريبة foreign agent مثل البكتريا والفيروسات تتبع من خلال استجابة الجهاز المناعي لاي جسم غريب يدخل إلى الجسم يطلق عليها طريقة تحلل المناعة وفيها تقنيات خاصة تشمل امتصاص الأشعة فوق البنفسجية والمرئية (uv/vis)

ويمكن اعتبار الاجسام المضادة كبروتينات كما في المرضى الذين يتعاطون ادوية وعقاقير ينتج عنها زيادة في انتاج الدم، الادرار، الحيامن الذكرية وسوائل الجسم الاخرى.
في احد الطرق التحليلية اخذ 96 شريحة وتم طلاء قسم منها في العقار وقسم آخر في نماذج الدم للمرضى وتضع في تجاويف تحتوي على الاجسام المضادة وتترك لفترة من الزمن ثم تاخذ هذه النماذج ويتم مسحها بواسطة الـ UV.

التركيب الاولي للبروتين primary structure

يعتبر التركيب الاولي للبروتين عبارة عن تسلسل خطي للاحماض الامينية المرتبطة بأواصر ببتيدية وبذلك يكون مخطط تركيب البروتين كما يلي:-

حامض اميني← ببتايد← سلسلة بولي ببتايد← بروتين

تتحد الاحماض الامينية مع بعضها البعض لتكوين الببتيد ثم يتم تكوين سلاسل متعددة الببتيد حيث يحتوي على عشرين 20 حامض اميني. يتكون البروتين من واحد أو اكثر من سلاسل الببتيد. اذ ان كل جزيئتين من متعدد الببتيد تمتلك تركيب أولي خاص بها. تاريخيا استخدمت المعلومات عن تركيب البروتينات الاولية فاستخدمت طريقة مناسبة للتوصل إلى بعض العلاقات التطورية للكائنات الدقيقة بواسطة عكس التسلسل الاتي:

تعاقب قاعدة DNA ← تعاقب قاعدة RNA← تعاقب الحامض الاميني البروتيني

ومنها يمكن التوصل إلى تسلسل الاحماض الامينية المكونة للبروتين وتبدا العملية باجراء مقارنة بين تسلسل الحامض الاميني للبروتين بين كائنين حيين مختلفين وذلك بتحديد الاحماض الامينية المشتركة بينهما فكلما كان الكائنين متشابهان كلما كان الجين الذي يحمل الشفرة إلى البروتين هو الذي يحدد الاحماض الامينية المشتركة بينهما وبنفس الطريقة فأن الجينات المتشابهه تأدي إلى علاقات تطورية قريبة.
ان الحاجة إلى هذا المدخل هو الحصول على معلومات جينية (نتوقع الصفات الوراثية للاجيال القادمة) على الرغم فأن هذه المعلومات تتناقص عندما تكون التقنيات تتبع تسلسل تركيب DNA ولم تذكر حاجة للرجوع إلى الوراء ما دامت المعلومات المباشرة عن الاحماض النووية DNA متوفرة. كثير من شركات الهندسة الوراثية قد شغلت الكيميائيين لمعرفة تسلسل البروتين الناتج للكائنات الحية بمعرفة جينها للتحقق بان التركيب الاولي يكون متطابق التي تنتج بواسطة البشر.

التركيب الثانوي للبروتين Secondary structure

يتكون البروتين في هذا المستوي بشكل ثلاثي الابعاد فالتركيب الثانوي يتكون من ترتيب سلاسل متعدد الببتيد وتثبت من خلال التداخلات بين الهيكل المحوري لهذه السلاسل وكون مجاميع R لا تدخل في هذا التركيب بسبب ان سلاسل متعددة الببتيد تمتلك نفس الاتجاه المحوري لذلك العدد الكلي للتركيب الثنائي محدود في الطبيعة. اكثر التراكيب الثانوية شيوعا هي الحلزون الفا يكون شكلة حلزوني وقد تم اكتشافه من قبل العالمين في الاربيعات. يثبت التركيب الحلزوني الفا بواسطة الاواصر الهيدروجينية بين (NH) ومجاميع الكاربونيل (C=O) في الهيكل المحوري للسلاسل. من التراكيب الاخرى للتركيب الثانوي هو صفائح بيتا beta pleated حيث تتواجد في الكولاجين والحرير.

التركيب الثلاثي للبروتين Tertiary structure

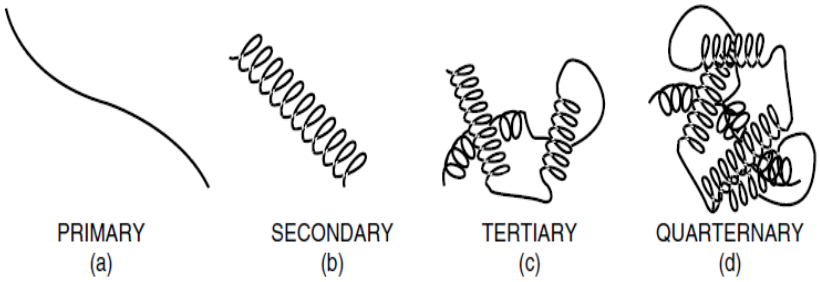
كل سلسلة من متعدد الببتيد في الطبيعة تمتلك تركيب خاص به على سبيل المثال اذا كان 25000 نوع من متعدد الببتيد يوجد 25000 نوع ثلاثي التركيب ان هذا العدد الكبير يعني بان التراكيب الثلاثية التفضيلية غير معروفة في المختبر ويصعب دراستها، هذا التعقيد ادى إلى وجود عدد غير محدود من التداخلات الممكنة لتثبيت التركيب الثلاثي للبروتين ومن هذا التداخلات هي:

1- تكوين تداخلات كارهة للماء
2- تداخلات بسبب اختلاف الشحنة
3- تكوين أواصر هيدروجينية
4- تكوين أواصر ثنائية الكبريت بين حامض السستين الموجودة في السلسلة اذ تكون اصرة ثنائية الكبريت وهو الترابط التساهمي الوحيد لذلك فان وجودها جوهري في زيادة استقرارية البروتين.

ان درجة تعقيد التراكيب الثلاثة مصدرة عدد أو رقم يسمى رقم القص shear number (يعبر عن درجة تعقيد التركيب الثانوي للبروتين) للتداخلات الممكنة على سبيل المثال اذا اخذنا سلسلة متعدد الببتيد تتكون من 200 حامض اميني و100 منها تحتوي على مجاميع R كارهة للماء من الناحية النظرية كل واحدة من هذه 100 ممكن ان تكون تداخلات كارهة للماء مع اي واحدة من الـ99 الباقية ولتحديد التراكيب الثلاثية الكاملة يجب معرفة اي حامض اميني كون هذا التداخل.

التركيب الرباعي للبروتين:

هو اعادة ترتيب للتركيب الثلاثي حيث ينشأ نتيجة تداخلات مجاميع، ليس كل البروتينات تمتلك هذا التركيب مثال على ذلك هيموكلوبين البروتين الذي يحمل الاوكسجين من الرئتين إلى الانسجة يتكون من اربع سلاسل من متعدد الببتيد ويمتلك التركيب الرباعي ويتحد هذا التركيب مع تداخلات التي تثبت التركيب الثلاثي.

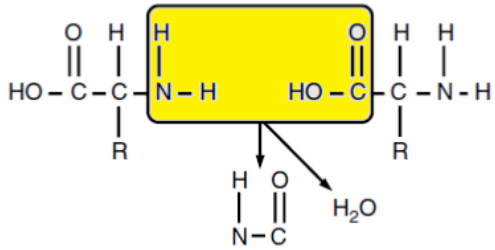


شكل (23- 6) تراكيب الانواع الاربعة للبروتين

الاحماض الامينية Amino acids:

يوجد 20 حامض اميني شائع وهو عبارة عن جزيئات مكونة للبروتين وتمتاز بكونها متماسكة في التركيب ومتشابهة لكنها ليست متطابقة ويتكون كل حامض اميني من ذرة كاربون مركزية تسمى الفا كاربون (alpha carbon) تتصل فيها مجموعة كاربوكسيل ومجموعة امين وذرة H ومجموعة R خاصة تختلف بعضها عن البعض الاخر، ان مجموعة R هي التي تحدد خواص البروتينات حيث اذا كانت محبة للماء اصبح البروتين ذائب في الماء يتم تحليل الاحماض الامينية باستخدام طرائق كروماتوغرافيا الورقة وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة والهجرة الكهربائية.

الببتيدات: عبارة عن سلاسل صغيرة من الاحماض الامينية ترتبط مع بعضها بروابط ببتيدية تكون اكثر الجزيئات ذات فعالية بايلوجية تحتوي حوامض امينية من 2- 10 تشكل روابط ببتيدية بين مجموعة الكاربوكسيل لاحد الحوامض الامينية ومجموعة الامين لحامض اميني اخر وكونها تفقد جزيئة ماء في هذه العملية وذلك تدعى التخليق بازالة الماء dehydration synthesis وكما في الشكل الاتي:



شكل (23- 7) تكوين الأواصر الببتيدية

رابعا: الاحماض النووية nucleic acids

يوجد نوعان من الاحماض النووية، الحامض النووي المنقوص الاوكسجين DNA (deoxyribo nucleic acid) والحامض النووي الرايبوزي RNA (ribo nucleic acid). وان درجة تعقيد هذه الاحماض النووية هو موضوع بعيد عن تركيب البروتيني العادي والاحماض النووية عبارة عن بوليمرات تتكون من وحدة متكررة فيها هي النيوكيليوتيدات (nucleotides)، ان كل حامض نووي في الخلية يمتلك تركيب ثلاثي الابعاد يرتكز على ثلاث محاور:

1- ذرة نيتروجين قاعدية.

2- جزيئة سكر احادي- خماسي التركيب (الرايبوز).

3- مجموعة الفوسفات .

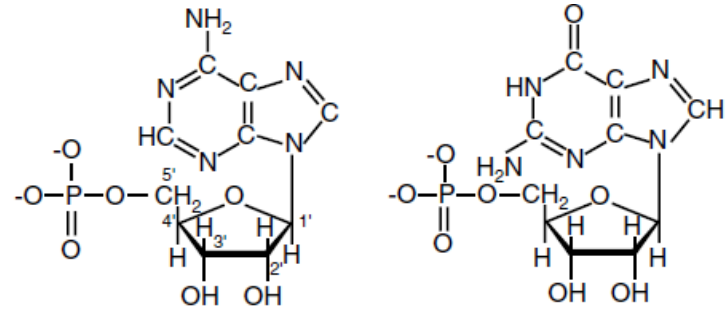
بالنسبة لذرة النيتروجين عبارة عن حلقة اروماتية غير متجانسة وتوجد نوعان من القواعد النيتروجينية هي:

1- البيورينات purines.

2- البريميدينات pyridines.

البيورينات:

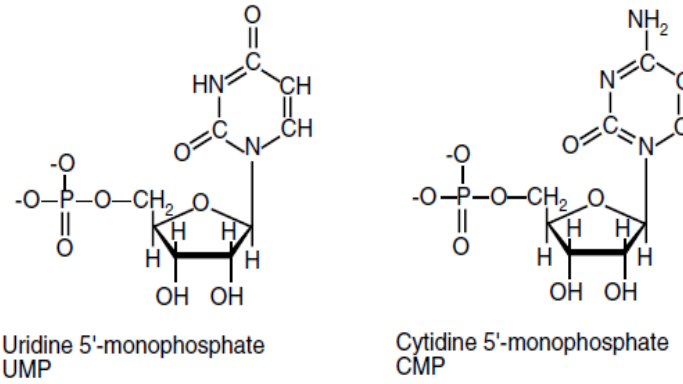
عبارة عن قواعد عضوية تحتوي على ست ذرات بشكل حلقة سداسية مرتبطة مع ثلاث ذرات بشكل حلقة خماسية اذ يتكون في الحلقتين خمس ذرات كاربون واربع ذرات نيتروجين ومن البيورينات الشائعة هي A, G وتوجد بيورينات غير شائعة مثل الزانثين xanthine والهايبوزانثين hypoxanthine حيث تربط الذرة الاولى لسكر الرايبوز مع ذرة النيتروجين رقم 9 للقاعدة النيتروجينية كما يلي:



شكل (23- 8) البيورينات

البريميدينات:

عبارة عن حلقة سداسية تحتوي على اربع ذرات كاربون وذرتين نيتروجين وتشمل القواعد (T,U,C) اذ ترتبط ذرة الكاربون الاولى لسكر الرايبوز مع ذرة النتروجين رقم واحد في القاعدة كما يلي:



شكل (23- 9) البريميدينات

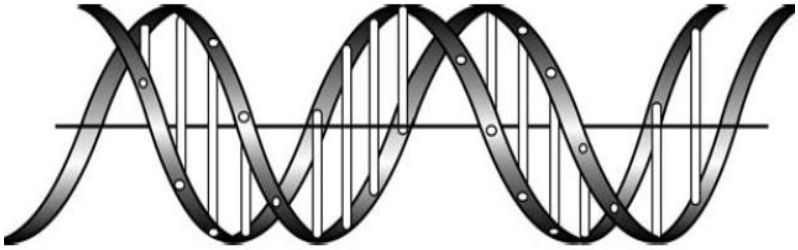
هناك 8 انواع شائعة من النيوكليوتيدات اربع منها توجد في DNA والاربع الاخرى في RNA. النيوكليوتيد التابع إلى DNA يعتبر dspecifies اي وجود deoxyribos اما بالنسبة لجزيئات RNA فلا تمتلك هذا المختصر. والجدول الاتي يعطي النكليوتايد والنكليوسايد الشائعة.

جدول (23- 1) النكليوتايد والنكليوسايد الشائعة.

Nucleosides	Nucleotides
Adenosine	AMP = adenosine monophosphate
Guanosine	GMP = guanosine monophosphate
Cytidine	CMP = cytidine monophosphate
Uridine	UMP = uridine monophosphate
Deoxyadenosine	dAMP = deoxyadenosine monophosphate
Deoxyguanosine	dGMP = deoxyguanosine monophosphate
Deoxycytidine	dCMP = deoxycytidine monophosphate
Deoxythymidine	dTMP = deoxythymidine monophosphate

الحامض النووي

تكمن اهمية الحامض النووي كونه المادة الوراثية لجميع اعضاء الخلايا الوراثية أو الجينية للخلايا تحمل داخل جزيئات قاعدية متسلسلة تتواجد في معقد شريط مزدوج. هذه القواعد العضوية تنجذب بعضها إلى بعض بواسطة روابط هيدروجينية اثنين منها بين الادنين والثايمين A- T والاخرى بين C- G وتقوم هذه الروابط بتثبيت السلاسل الملتفة لتكوين الشريط المزدوج كما في الشكل (22-10).



شكل (23- 10) تركيب الازدواج لDNA

اما جزيئة RNA فتركيبها متنوع اكثر من DNA اذ تتواجد جزيئتها باكثر من تركيب وتكون بشكل شريط منفرد وثلاثي الابعاد.

وتاخذ جزيئة RNA الانواع الاتية:

1- mRNA المرسل messenger

2- tRNA الناقل trasfer

3- rRNA الريبوسومي ribosomal

جميع هذه الجزيئات تنقل المعلومات الوراثية في الخلية.

التحليل المختبري للجزيئات

ان تهيئة الظروف المختبرية لتحليل نماذج مختبرية ومن ضمنها تحليل الجزيئات البايولوجية التي اجري تحليلها بطرق وتقنيات قديمة. فمثلاً قدر البروتين قبل 50 سنة بطرق قديمة ودرس اهمية البروتين وعلاقته الوثيقة بوظائف اعظاء الجسم. كما تم فحص نماذج الاغذية لما تحتويه من كاربوهيدرات ودهون ثلاثية وبروتينات بنفس الطرق.

ولكن الحاجة الملحة من قبل المستهلكين لمعرفة المزيد من المعلومات على نوع الاغذية وتصنيفها تطلب تحليل هذه الاغذية لاحتوائها على هذه الجزيئات بتقنيات اكثر تطورا بما يضمن سرعة ودقة المعلومات.

لوحظ ان هناك كائنات حية تولد بروتينات مماثلة للبروتينات التي ينتجها جسم الانسان مما يساعد في فهم كثير من الامراض عند تحليل هذه البروتينات خاصة عند دراسة الجينات الوراثية ضمن هندسة الجينات وهذا تطلب ظهور موضوع جديد اسمه التكنولجية الحيوية biotechnology اذ يقوم الباحثون في تغيير الصفات الوراثية. اضافة إلى ما ذكر فان تحليل DNA اصبح موضوع في غاية الاهمية وخاصة في تشخيص الطب العدلي اعتمادا على الخاصية المميزة التي يعطيها DNA عند تحليله اذ يكون حالة متقدمة للتشخيص ادق من طبع الاصابع المتبعة في الطب العدلي.

الظروف المختبرية لتحليل الجزيئات البايولوجية حالها حال اي مختبر تحليلي يتطلع إلى اعطاء نتائج موثوقة ودقيقة وسريعة وهذا يتطلب تطور نوعي في تقنيات التحليل وتنوعها. ومن هذه التقنيات سوف ندرجها باختصار وحسب ما مناسب في تحليل هذه الجزيئات البايولوجية والاشارة إلى مكان ذكرها في الفصول السابقة.

طريقة الترحيل الكهربائي electrophoresis:

ظهرت فكرت هذه التقنية عام 1970 وتطورت بشكل سريع وخاصة عند استخدام تقنية الترحيل الكهربائي الشعري المناطقي capillary zone electrophoresis لكونه يحتاج كمية قليلة من النموذج وحساسيتة العالية وخاصة عند استخدام كاشف مناسب.

وتستخدم تقنية الترحيل لفصل ودراسة الجزيئات عند تسليط جهد كهربائي عليها وتفصل هذه الجزيئات حسب الشحنة وكميتها. الجزيئات البايلوجية (البروتينات والببتيدات والاحماض الامينية والنووية) ترحل بفعل المجال الكهربائي المسلط.

ان الاحماض الامينية والببتيدات والبروتينات تمتلك مجاميع قابلة للتاين،مثلا مجموعة (NH_2) عند اضافة حامض تتحول إلى ايون الامونيوم الموجب (NH_3^+) ومجموعة الكاربوكسيل (COOH) تفقد بروتون فتصبح سالبة (COO^-).

اما الحوامض النووية والنيوكليوتيدات فهي تتحول إلى ايونات سالبة بسبب وجود مجموعة الفوسفات. ان جميع الايونات السالبة والموجبة السابقة الذكر يتم ترحيلها بفعل الاشارة التي تحملها إلى الاقطاب اي باتجاه معاكس لشحنتها. اما السرعة أو المسافة تحددها كمية الشحنة للجزيئة، فالجزيئة التي تحمل شحنات اعلى تتحرك اسرع من التي تحمل شحنة اقل. اما الالية التي يتم الفصل بها اي بعد الوصول إلى الاقطاب المعاكسة فتفصل طبقا إلى نوع الترحيل. ومن هذه النواع:

أولا– الترحيل الكهربائي الورقي paper electrophoresis

طريقة بسيطة تتكون من قطعة صغيرة من ورف الترشيح قابل للامتصاص يغمس في محلول البفر الذي يقوم بنقل التيار الكهربائي. توضع المتويات في وعاء زجاجي أو بلاستيكي يحتوي على قطب انود أو كاثود وتستخدم هذه التقنية في فصل الاحماض الامينية والببتيدات.

ثانيا– الترحيل الكهربائي ذات الشريحة الجلاتينية Gel electrophoresis

تستخدم في هذه الطريقة انواع من المواد الجلاتينية الشائعة مثل بولي اكرايل امايد وهي مادة سامة للاعصاب لذلك يجب التعامل معها بحذر لكونها مسحوق خام قابل للتطاير في الهواء فعند استنشاقة يؤدي إلى الشلل ويستخدم هذا النوع مع البروتينات اما الحوامض النووية فيستخدم معها الاكاروز.

الترحيل الكهربائي الشعري capillary electrophoresis

وهي احدث التقنيات في فصل هذه الجزيئات البايولوجية ويحدث الفصل في انبوبة شعرية زجاجية ذات طول وقطر معين تحتوي على محلول المنظم (البفر) الذي يتصف:

1– يحتوي ايونات تنقل التيار الكهربائي.

2– يجب ان يكون مستقر اتجاه مكونات المحلول.

هناك كثير من البروتينات تكون غير مستقرة في المحيط الحامضي لذلك لجا الباحثون إلى استخدام محاليل منظمة قلوية Tris- (hydroxymethyl) amino methane (TRIS or THAM) وخلات الصوديوم وكذلك يضاف ethylenediamine tetraacetate (EDTA) وهذه المحاليل شائعة لتعطي قيمة pH من 7.9 إلى 8.9.

وتوجد محاليل منظمة اخرى مثل المحاليل المنظمة الفوسفاتية (10 مل مولاري من K_3P04) تعمل جيدا للاحماض النووية ومشتقاتها.

ثانيا– الطرق الكروماتوغرافية methods chromatographic

تعد هذه الطرق من الطرق الفعالة في فصل وتحليل الجزيئات البايولجية وخاصة البروتينات والاحماض النووية وتكون طريقة الفصل معقدة نسبة إلى تعقيد هذه الجزيئات. ونجد في هذه التقنية تطوراً كبيراً في استخدام التكنولجيا في التحليل الكيميائي.

انواع الطرق الكروماتوغرافية المستخدمة:

كروماتوغرافيا الورقة paper chromatography:

طبقت هذه التقنية عام 1940 لفصل بعض الجزيئات البايولجية مثل العقاقير. وتعتبر اليوم طريقة مفيدة جدا في فصل الاحماض الامينية بالرغم من وجود 20 حامظاً امينياً متشابها كيمياويا ولكن اختلافها في الوزن الجزيئي والشحنات وقطبيتها ساهم إلى حد ما في فصل هذه الاحماض الامينية وذلك عن طريق تداخلها مع الطور الثابت بدرجات مختلفة وهذا يؤدي إلى تحركها بسرع مختلفة. اما الطور المتحرك عبارة عن مزيج من 70%من الكحول الايزوبروبايل في الماء.

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة thin layer chromatography:

استخدمت هذه الطريقة عام 1950 لفصل المواد البايولوجية ولكن لسوء الحظ ان هذه التقنية حساسيتها غير كافية لتحديد مركبات جديدة وخاصة المركبات العضوية ثلاثية الحلقات (tricyclics) اي المواد ذات التراكيز الواطئة (ng/ml).

وتمتلك هذه الطريقة تطبيقات مماثلة إلى كروماتوغرافيا الورقة ولكن الطور الثابت يتمثل بطلاء مادة السليكا جل على لوح بلاستيكي أو زجاجي. ويحدث الفصل نتيجة التباين في الشحنة والوزن الجزيئي والقطبية. وتستخدم هذه التقنية لفصل النيكلوتيدات على لوح جلاتين السليكا وبوجود الايثانول بتركيز 20% مع الماء كطور متحرك.

كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC: بدات هذه التقنية تستخدم في أو اخر الستينات وبداية السبعينات من القرن الماضي. ولكن التطور الحاصل في نوع الكاشف في تحديد كمية ونوع المادة،بدا باستخدام كاشف UV ثم كاشف التفلور وكاشف HPLC- MS جعل هذه التقنية رائدة في تحليل مثل هذه المواد.

وتستخدم تقنية HPLC غالبا في تحليل الاحماض الامينية والببتيدات والبروتينات والاحماض النووية والنكليوتيدات. وبسبب الطبيعة المعقدة للجزيئات فان هذه التقنية تبدو اكثر تعقيدا فعلى سبيل المثال فصل النكليوتيدات أو الاحماض الامينية يكون اكثر صعوبة من فصل الكافائين في المشروبات الغازية حتى لوكان الفصل في نفس الجهاز وبنفس الطريقة لكون الجزيئة معقدة وهذا يحتاج إلى أعمدة خاصة.

الأعمدة columns

هنالك ثلاث متغيرات مهمة ومألوفة تلعب دور مهم في فصل الجزيئات البايلوجية وهي:

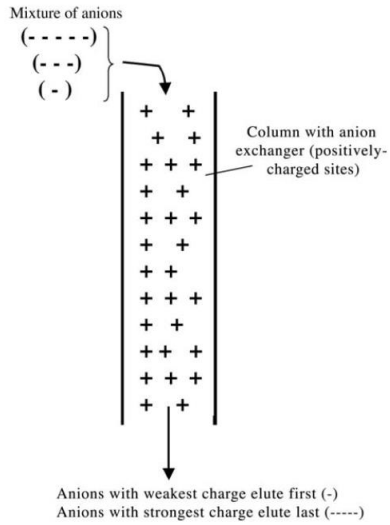
1- الوزن الجزيئي 2- الشحنة 3- القطبية.

اذا كان الفصل يعتمد على الوزن الجزيئي تستخدم تقنية كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي size exclusion chromatography كما في كروماتوغرافيا الجل النفوذي (GPC) وهذا يتطلب اختلاف في الاوزان الجزيئية بنسة 10% على الاقل ويكون ترتيب المواد المفصولة من الاكبر إلى الاقل وزنا جزيئيا. وهذه التقنية تكون مفيدة في فصل مزيج من البروتينات ولكنها غير فعالة للاحماض الامينية والببتيدات والنيوكليوتيدات لانها تختلف عن بعضها بنسبة اقل من 10%.

اما اذا اردنا فصل الجزيئات البايولوجية على اساس الشحنة فنستخدم عمود مبادل ايوني ion exchange column معلوم يحتوي على طور ثابت ذو تبادل انيوني قوي يدعى strong anionic exchange (SAX) وهو مادة عضوية تحتوي على مجاميع فعالة سالبة تستخدم لفصل الاحماض الامينية والببتيدات والنيوكليوتيدات.

وتهياة العمود الانيوني يتم بتعبئة العمود بمواد تحمل شحنة موجبة شكل(22-11) فيكون فعال لفصل جميع النكليوتيدات التي تحمل شحنة سالبة نسبة إلى مجموعة الفوسفيت ولكنها تختلف في الفصل لانها تحتوي على قواعد نتروجينية خاصة بها. فان الايونات التي تنزل أولا هي الايونات الموجبة اما الايونات السالبة تفصل مؤخرا تبعا للاختلاف المشار له اعلاه.

كلما كانت الشحنة على النيوكليوتايد قوية يحصل تداخل قوي مع الطور الثابت فالنيوكليوتايدات التي تمتلك شحنات اقل تنزل أولاً من العمود وبالعكس التي تمتلك شحنات اكبر تنزل اخيرا مع ملاحظة ان الاختلاف في الشحنة ليس كبيرا لذلك تكون القمم في الكروماتوكرام متقاربة مع بعضها.



شكل (23- 11) كروماتوكرافيا التبادل الايوني

اما الاحماض الامينية والببتيدات يمكن فصلها كذلك بهذه التقنية (SAX) بشرط استخدام pH معين ماعدا نقطة التعادل الكهربائي iso electric point التي يكون صافي الشحنة صفرا. عند pH اعلى من نقطة التعادل الكهربائي يكون صافي الشحنة سالبا واذا كان اقل منها يكون صافي الشحنة موجبا ومن هذا المبدا ان جميع الاحماض الامينية والببتيدات المشحونة بشحنة موجبة يتم فصلها عند pH 3.5 أو اقل وعلى مبادل كاتيوني اما التي تحمل شحنات سالبة فيتم فصلها على مبادل انيوني و pH اكبر من 9.

اما الجزيئات البايولجية التي يعتمد فصلها على القطبية فان جزيئات الاحماض الامينية والببتيدات والنيوكليوتيدات فانها تختلف في الخاصية القطبية فبعضها يكون كارة للماء hydrophpic مقارنة بغيرها لذلك احتمالية فصلها بعمود الطور العكوسي reverse phase column (C_{18} -C_8) ذو قطبية متوسطة إلى عديم القطبية وكلما كان النموذج كارة للماء زادت درجة تداخلة مع الطور الثابت لذلك تنزل ببطيء عكس النماذج المحبة للماء.

الاحماض الامينية والنكليوتيدات مواد قطبية اي محبة للماء فانها تنزل أولا بسرعة من العمود ذات الطور الثابت العكوسي. اما الببتيدات فهي كارة للماء اي غير قطبية فنختار طور ثابت عكوسي يحتوي على (C_{18} -C_8) فيتاخر الببتايد في الطور الثابت للعمود.

ولفصل الاحماض الامينية والنكليوتيدات ذات القطبية فنختار عمود ذات طور ثابت طبيعي normal stationary phase لكونها تنسجم مع خواص الطور الثابت للعمود.

الطور المتحرك mobile phase

ان اكثر تطبيقات HPLC التي تختص بالجزيئات البايولجية تستخدم اطوار متحركة مائية، ومن المتغيرات التي تؤثر على عملية التحليل تشمل القوة الايونية للطور وقيمة pH له. ومن المواد المذابة الشائعة تتضمن TRIS وفوسفات الصوديوم وخلات الصوديوم وكلوريد الصوديوم. من المحاليل التي تعطي (pH= 7.2) ويكون مناسب لفصل النكليوتايدات هي 50 ملي مولاري TRIS و25 ملي مولاري كلوريد البوتاسيوم 5 ملي مولاري كلوريد المغنيسيوم. 50 ملي مولاري من فوسفات الصوديوم ذات حامضية (pH= 7) و20 ملي مولاري 0.1TRIS مولاري من خلات الصوديوم (pH= 7.5) تستخدم لفصل الحماض الامينية والببتيدات.

جميع هذه الاطوار السالفة الذكر تكون مناسبة للطور الثابت العكوسي وتطبيقات المبادل الايوني. ومن الجدير بالذكر تتم متابعة كشف الجزيئات البايولوجية بعد خروجها من العمود عن طريق امتصاصها للأشعة الفوق البنفسجية UV ولكن نلاحظ جميع الاحماض الامينية النقية لاتمتص شعاع UV لذلك تتطلب الحاجة إلى تحويل هذه المواد إلى مشتقات لها القابلية لامتصاص هذه الأشعة وهذا قد يعقد التحليل بتقنية HPLC. ان الاحماض النووية والنكليوتيدات لاتحتاج إلى جزيئات مشتقة لانها تمص أشعة UV. ومن العوامل المشتقة الشائعة o-phthaldehyde و dansyl chloride و phenylisothiocyanate.

الطرق الطيفية spectroscopic methods

تعتبر الطرق الطيفية باختلاف انواعها مفيدة جدا في تحليل الجزيئات البايلوجية، ومن اكثرها استخداما هي UV. Vis اذ ان البروتينات والاحماض النووية تمتلك أواصر متعاقبة لذلك تمتص أشعة UV ضمن مدى 200- 300 نانومتر. جميع البروتينات تمتص الأشعة عند طول موجي 280 نانومتر اما لاحماض النووية والنكلوتيدات تمتص عند طول موجي 260 نانومتر ولهذا السبب تعتبر هذه الاطوال الموجية مهمة في متابعة نسب هذه الجزيئات في محاليل مختلفة.

بعض البروتينات والتي تسمى بالبروتينات المتعاقبة conjugated proteins كما في الهيموكلوبين والسايتوكروم اللذان يكونان لون احمر يمتصان الأشعة المرئية عند اطوال موجية ضمن مدى (520- 580) نانومتر.

اسئلة الفصل الثالث والعشرون

- ما اسم وحدة المونيمرات لكل مما ياتي:

a- السيللوز

b- البروتين

c- هيموكلوبين

d- النشأ

e- الكولاجين

f- DNA

g- RNA.

2- اذكر اسم بوليمرين لهما تركيب حلزوني.

3- ما المجموعة البايولوجية الفعالة للكاربوهيدرات.

4- ارسم كمثال الحوامض الدهنية المشبعة والغير مشبعة.

5- وضح كيفية تكوين الأواصر الببتايدية.

6- صف اربع مستويات من التراكيب للبروتينات.

7- اعطي ثلاثة انواع رئيسية RNA.

8- اذكر اهم الفروقات من حيث التركيب والفعالية RNA، DNA.

9- لماذا صعوبة فصل كلتا النيوكلايتيدات والحوامض الامينية المشتقة بواسطة كروماتوغرافيا الطور العكسي.

10- اذكر نوعين من الأعمدة التي تستخدم في HPLC لفصل المركبات النيوكلايتيداتة.

11- اي من المركبات التي لها قابلية امتصاص أشعة UV من المركبات ذلت السلاسل الالكانية والمركبات التي تحتوي على أواصر مزدوجة متبادلة.

12- بين ثلاثة انواع من طرائق التحليل الالي تستخدم لدراسة التحليل البايولوجي.

الفصل الرابع والعشرون
التحليل الاحصائي Statistical Analysis

مقدمة:

من اهم علامات ومؤشرات التطوير والتنمية داخل المجتمعات النامية والمتقدمة هي القدرة على قياس اهم مظاهر متطلبات الحياة لمواطنيها مثل نقاوة ماء الشرب وجودة وسلامة الغذاء، فضلاً عن ملائمة المنتجات والسلع الصناعية للاستخدام، الامر الذي يتطلب قياس هذه المظاهر بتطبيق انظمة تعرف باساليب السيطرة النوعية وتوكيد الجودة في القياسات التحليلية (quality control and quality assurance system in analytical measurements) كانظمة تعمل على تحقيق وضمان الحصول على دقة وضبط النتائج من خلال تطبيق الخطوات اللازمة لتحليل العينات ابتداءا من عملية النمذجة ثم خطوات التحليل وانتهاءا بتقديم النتائج التي ترضي الزبون أو المستخدم. لذلك تسعى المختبرات التحليلية الكيميائية وفق تطبيق هذه الانظمة تقديم نتائج تحليلية ذات دقة وضبط عاليين، وهذا لم يتحقق الا من خلال تطبيق الاساليب والقوانين الاحصائية التي ينبغي على المحلل الكيميائي ان يكون ملما وعلى دراية كافية بتطبيقها في ضبط العملية التحليلية وصولا إلى تقديم نتائج ذات موثوقية ومعولية يعتمد عليها صانع القرار في اتخاذ الاجراء الصحيح لرفض أو قبول هذا المنتج أو ذاك قبل وصولة إلى المستهلك.

ان مهمة المحلل الكيميائي لا تنحصر في اجراء العمليات واخذ القراءت بطريقة صحيحة كما تتطلبها طريقة العمل بل يجب ايضا ان يجري الخطوات الاتية حتى يكون لعملة معنى ومغزى:

1- يجب ان يدون نتائجة بنظام ويحسب النتائج حساباً صحيحاً.

2- ان يجري التحليل عدة مرات للنموذج الواحد (على الاقل ثلاث مرات) ويؤخذ الوسط الحسابي (المعدل) مع ملاحظة اي من النتائج يمكن ان تستبعد لشواذها أو يحتفظ بها من بقية النتائج بغد اجراء عمليات تحقق احصائي لكي يقرر ادراج هذه النتيجة أو عدمها.

3- يجب على المحلل ان يقيم النتائج التي حصل عليها وبيان حدود الخطا المحتملة التي تخضع لها النتيجة النهائية ومصداقية الطريقة التحليلية المتبعة ودقة النتائج وموثوقيتها مع مقارنتها مع الطرق القياسية الاخرى المتبعة في تحليل مثل هذه النماذج.

ومن المفيد في تقويم هذه النتائج اتباع الطرق الاحصائية البسيطة والمناسبة للخروج بنتائج موثوقة خاضعة لمتطلبات انظمة السيطرة النوعية وضمان الجودة QC/QA

quality control and quality assurance ضـــــمـن نـظـام الايـزو ISO (international standard organization) الصـــــادر من قبل المنظمة الدولية للتقييس.

قبل الدخول في كيفية استخدام طرائق المعالجات الاحصائية للقياسات أو النتائج التحليلية ينبغي ان يدرك المحلل الكيميائي بان كل نتيجة تحليلية لابد ان ترافقها نوع من الاخطاء تحدث خلال العمليات التحليلية يفترض تقديرها وتخيمنها باستخدام الاختبارات الاحصائية، لذا لابد أولاً ان نتعرف على انواع الاخطاء التي تحدث اثناء عمليات التحليل الكيميائي والحصول على النتجة التحليلية، إذ تقسم هذه الاخطاء إلى مايلي:

1- **الاخطاء المحددة أو النظامية:** وهي تلك الاخطاء التي يمكن معرفتها ببساطة وتحديد مصادرها وتجنبها وتصحيحها وقد تنشأ هذه الاخطاء نتيجة وجود عيب ما اما في التحليل أو في الجهاز المستخدم أو من المحلل نفسة فمثلا اذا استخدم دليل لا يغير لونه عند نقطة التكافؤ ينشأ خطأ كما ان استخدام سحاحة غير نظيفة قد يسبب ايضا هذا الخطأ(نتيجة اعلى أو اقل من النتيجة الصحيحة). ويقال ان الأخطاء المحددة أو النظامية تؤثر على الضبط "accuracy".

2- **الاخطاء غير المحدة أو العشوائية:** وهي تلك الاخطاء التي لا يمكن تحديدها ومعرفة مصادرها ولايمكن تجنبها فمثلا عند تعيين الحجم من قراءة السحاحة فلا يمكن ان يكون صحيحا الا لاقرب 0.01 أو 0.02 مل مهما بذل المحلل من عناية ودقة. وقد يكون الخطا موجبا أو سالبا إذ تؤثر الاخطاء العشوائية على دقة "precision" الطريقة التحليلية. يتبع هذا النوع من الاخطاء على قوانين الاحتمالات ومنها قانون التوزيع الطبيعي Normal Distribution أو ما يسمى بمنحني كاوس "Gaussian Curve" الذي سيتم التطرق الية فيما بعد للتعرف على التوزيع العشوائي للاخطاء وتفاصيل وصف وخصائص هذا القانون. وعليه فان الاحصائيات الاساسية التي تسخدم بشكل واسع لوصف خصائص هذا التوزيع تقع ضمن الحقول الآتية:

1- قياس النزعة المركزية لمجموعة النتائجthe central tendency of a set results أو ما يسمى قياس مركز النتائج.

2- قياس درجة انتشـــار أو تشـــتت البيانات حول القيم المركزية Measures of Dispersion or Variation.

1- قياس مركز النتائج

مثلا اذا حصلنا على مجموعة من النتائج تحتوي العدد المطلوب من الاعداد ذات المغزى فيجب عند ذلك اختيار احســـن قيمة تمثل النتيجة لمقارنتها بالنتيجة الحقيقة "μ " حتى يمكن معرفة صحة النتائج، ومن هذا يمكن حساب النزعة المركزية لمجموعة النتائج وذلك عن طريق اتباع احدى هذه الطرق الاتية:

a- تعيين **المتوسط الحسابي** أو المعدل وهي الطريقة الشائعة.

b- تعيين **الوســيط** "median" أو **المنوال** "mode" أو تعيين المتوســط الهندســي X_g وهي طرائق اقل شيوعا. ويعيين المتوسط الحسابي $\bar{x}$ من المعادلة الاتية:

$$\bar{x} = \frac{\sum_i x_i}{n} = \frac{1}{n}(x_1 + x_2 + x_3 + ... + x_n)$$

اذ تمثل $\sum$ المجموع ا من $\sum_{i=1}^{n}$ إلى مجموع قيم x من xi إلى x_n اذ ان n هي عدد النتائج.

اما الوسيط: هو العدد الذي يقع في المنتصف بعد ترتيب النتائج تصاعديا حسب قيمتها اذا كات مجموع الاعداد فردي ويؤخذ متوســط العددين الوســطين اذا كانت عدد النتائج زوجيا ومن خلاله يمكن حساب النزعة المركزية.

$Me = X_{n+1}/2$ for odd

$Me = (X_{(n/2)} + X_{(n/2)+1})/2$ for even

ويؤخذ المتوسط الهندسي كمقياس للنزعة المركزية ايضا اذا كان الفرق بين اصغر واكبر النتائج ويسمى هذا الفرق بمدى النتائج ويساوي $(x_n - x)$ ويحسب المتوسط الهندسي بالقانون الاتي:

$$\log x_g = 1/n \sum \log x_i$$

2- قياس تشتت أو تغاير النتائج

يقصــد بالتشــتت أو التغاير بانة التباعد أو التقارب الموجود بين قيم القياســات المتكررة لمتغير ما وهي تعد مقياس لمدى انتشار القياسات عن متوسطها الحسابي إذ كلما كان مؤشر التشتت كبير دل ذلك على عدم تجانس بين القيم المقاسة والعكس صحيح. ان مقاييس التشتت كثير وتختلف من حيث دقتها وطرق حسابها واهما:

- **المدى Range:** يعتبر احدى قياسات التوافق ويعطي فكرة عن مقدار انتشار النتائج وهو الفرق بين اعلى قيمة واقل قيمة في مجموعة من القياســات ويكون هذا المدى مفيدا فقط عند التعامل مع عدد قليل من القياسات "n=2" ويعبر عنة كما يلي:

$R = x_{highest} - x_{lowest}$

اما المدى النسبي (relative range) $= R/\bar{x}$ والمدى النسبي المئوي (relative range Percent) $= R/\bar{x}$ x100

- **الانحراف deviation:** هو الفرق بين القيمة العددية للقراءة والمتوسط الحسابي لقيم المعدل دون النظر إلى اشارته ويرمز له بـdi.

$$di = x_i - \bar{x}$$

ويحسب معدل الانحراف من المعادلة الآتية:

$$di = \frac{\left| \sum_{i=1}^{n} x_i - \bar{x} \right|}{n}$$

واما معدل الانحراف النسبي، يحسب من المعادلة الاتية:

$$\text{relative average deviation} = \frac{\bar{d}}{x}$$

ومعدل الانحراف النسبي بالمئة:

$$\text{relative average deviation percent} = \frac{\bar{d}}{x} \times 100$$

<u>الانحراف القياسي (Standard deviation)</u>

هو مؤشر احصائي أخر يوصف التشتت بالقياسات ويسمى بالانحراف المعياري أو القياسي ويعرف بانة الجذر التربيعي لمتوسط مربعات الانحرافات عن المتوسط الحسابي

مقسوما على عدد القياسات ناقصا واحد (n– 1). ويحسب للعينة التي لا تتجاوز 30 قراءة من المعادلة الاتية:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

أما اذا كانت عدد القراءات اكثر من 30 فيرمز للانحراف القياسي بـ (σ سيكما):

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \mu)^2}{n}}$$

- **التباين:** هو مربع الانحراف القياسي ويرمز له عادة (s^2) للعينة ويعتبر ايضا من المقاييس المهمة في الحسابات الاحصائية للعينة التي لا تتجاوز قراءتها عن 30.

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

أما اذا كانت عدد القراءات اكثر من 30 فيرمز للانحراف القياسي بـ (σ^2).

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - u)^2}{n}$$

– **الانحراف القياسي النسبي:** أو ما يسمى بمعامل التغاير (coefficient of variation – CV) وهذا المؤشر الاحصائي يحدد انتشار البيانات بالمقارنة مع معدل هذه البيانات ويحسب من المعادلة الآتي:

$$CV\ or\ RSD = \frac{S}{X}$$

اما الانحراف القياسي النسبي المئوي فيحسب من المعادلة الآتية:

$$RSD\% = \frac{S}{X} * 100$$

مثال: عين المعدل والانحراف القياسي والانحراف القياسي النسبي لعينة من النحاس باحد الطرق التحليلية وبعد تسجيل القراءات على النحو الاتي:

5.23, 5.79, 6.21, 5.88, and 6.02 nM

الحل:

المعدل = 5.826nM → 5.82 nM

s = 0.368 nM → 0.3_6 nM

الجواب

$5.8_2 \pm 0.3_6$nM or 5.8 ± 0.4 nM

RSD or CV = (0. 36 nM/5. 82 nM) 100 = 6.1% or 6%

التباين $s^2 = (0.3_6)^2 = 0.129$

Relative average deviation (RAD)

RAD = $(0.2_5/5.8_2)$ 100 = $4._2$ or 4%

RAD = $(0.2_5/5.8_2)$ 1000 = 42 ppt

Average deviation:

$$\bar{d} = \frac{\sum_i (|x_i - \bar{x}|)}{n}$$

$$\bar{d} = \frac{|5.23-5.8_2|+|5.79-5.8_2|+|6.21-5.8_2|+|5.88-5.8_2|+|6.02-5.8_2|}{5}$$

$$\bar{d} = 0.25 \rightarrow 0.2_5 \; or \; 0.2 \; nM$$

$$Answer: \quad 5.8_2 \pm 0.2_5 \; nM \; or \; 5.8 \pm 0.2 \; nM$$

مثال: قيس حجم سائل من قبل 6 طلاب وكانت نتائجهم كما يلي:

احسب الوسط الحسابي، المدى، الوسيط، الانحراف القياسي، التباين، الانحراف القياسي النسبي.

x_i	d= xi- $\bar{X}$	xi- $\bar{X}$) 2)
24.32	0.02 -	0.0004
24.38	0.04+	0.0016
24.45	0.11+	0.121
24.29	0.05 -	0.0025
24.30	0.04 -	0.0016
24.31	0.03 -	0.0009

Σ =0.1280Σ=146.05

$$\bar{X} = \frac{\sum xi}{n} = \frac{146.05}{6} = 24.34cm3$$

S=√∑0.128/6−1=0.0038

$S^2=(0.0038)^2$

P Σ Δ=0.00381/24.34·100

الوسيط:

24.45,24.38,24.32,24.31,24.30,24.29

الوسيط= 24.31 +24.32/2=24.315

المدى = اعلى قيمه– اقل قيمة= 24.45– 24.29= 0.16 سم^3

مثال3: اوجد نتيجة تحليل كيميائي ان النسبة المئوية في خامات الحديد مبينة في الجدول الاتي، جد الانحراف القياسي النسبي:

ix	xi– $\bar{X}$
67.48	0.058
67.37	052 .0+
67.43	0.008
67.43	0.008
67.40	022 .0+

$\bar{X} = \sum xi/n = 67.42$

$S=\sqrt{\sum(xi- \bar{X})^2/n}=0.036$

$RSD=S/\bar{X}x100 = 0.539$

الضبط والدقة (Accuracy and Precision)

من المفيد عند معالجة النتائج التحليلية ان نتعرف على الفرق بين ضبط النتائج (Accuracy) وتوافق أو دقة النتائج (precision).

فالضبط يعني مدى تقارب النتيجة (xi) أو معدل مجموعة من النتائج $\overline{X}$ إلى القيمة الحقيقية (true value)، إذ كلما ازداد التقارب بين القيم الحقيقية والقيمة المقاسة ازداد ضبط القياسات. فتقاس صحة نتيجتها (xi) أو المتوسط الحسابي لمجموعة من النتائج بمدى قربها من القيمة الحقيقية (μ) ويعبر عن صحة النتيجة بمقدار الخطا المطلق ويساوي (xi -μ) أو (μ- $\bar{X}$) (الضبط =القيمة المقاسة –القيمة الحقيقية) اي بعبارة اخرى ان الضبط يعني الفرق بين القيمة الحقيقية والقيمة المقاسة من التجربة.

ويحسب الخطأ النسبي بالمئة من المعادلة الآتية:

$$\% Erel = \frac{xi - u}{u} * 100$$

مثال4: عند تقدير الحديد الثلاثي طيفيا بواسطة كاشف ثايوسيانات ورسم منحنى المعايرة ومن اجل تطبيق ضبط النتيجة، اخذ تركيز 10 جزيء بالمليون من الحديد واعيدت القياسات خمس مرات وتم تطبيق الاجراءات الازمة لتحقيق دقة الطريقة وكما مبين:

القيمة الحقيقية True value	القيمة العملية Experimental value	الفرق بين القيمتين μ– x	الخطأالنسبي المئوي $\%E_{rel}$	الاسترادادية % Recovery%
10	9.9	- 0.1	1 -	99
10	10.1	+0.1	+1	101
10	9.8	-0.2	2 -	98
10	10.0	0.0	0.0	100
10	10.1	+0.1	+1	101

اما دقة أو توافق النتائج (precision) فتعني مدى التقارب أو الاتفاق بين القيم العددية للقياسات عند تكراراها، إذ كلما كان الاختلاف بين القيم العددية صغيرا كلما كان الاتفاق كبيرا. ويعبر عنة بمقدار انحراف مجموعة من النتائج عن المتوسط الحسابي لهذه المجموعة ومن الندرة الحصول على نفس النتيجة عند اعادة التجربة وبالرغم من اتفاق النتائج علامة حسنة على صحتها فانه من الممكن حصول توافق في النتائج مع كونها بعيدة عن الضبط والعكس يمكن ايضا ان تكون النتائج قريبة من الضبط بالرغم من ان درجة توافقها غير مرضية. ويعبر عن التوافق أو الدقة بالانحراف القياسي النسبي للطريقة ويمكن استخراجه حسب القوانين الاحصائية الاتية:

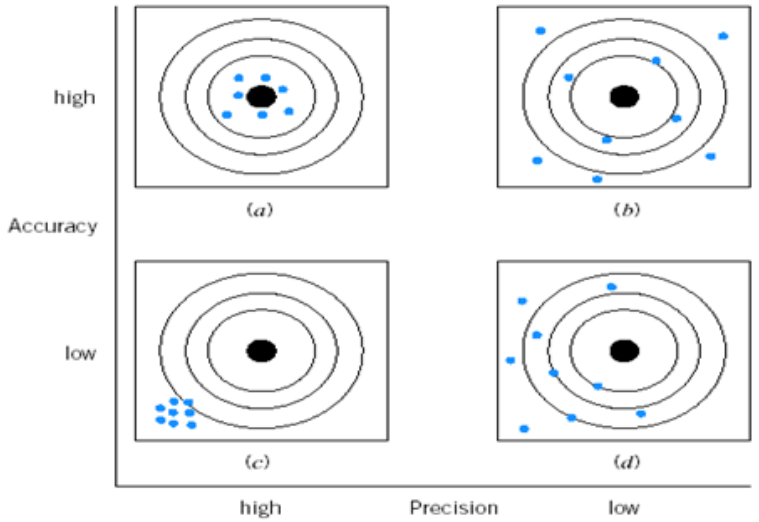
$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

S =الانحراف المعياري القياسي لمجموعة معينة من النتائج، X_i = القراءة ، $\bar{X}$ = معدل القراءات، n = عدد القراءات، اما الانحراف القياسي النسبي relative slandered deviation (R. S. D) يمكن استخراجه:

$RSD\% = s/\bar{x} * 100$

ومن هذين المفهومين يمكننا الاستدلال ان مدى ضبط النتائج يعتمد على معرفة القيمة الحقيقية وهذا صعب المنال لذا وفي معظم الاحيان تستعمل القيمة الاكثر احتمالا (most probable value) والتي يكون فيها احتمال الخطأ فيها صغير وتعتبر مساوية

للقيمة الحقيقية. ولتوضـــيح مفهوم الضـــبط والدقة بيانيا والذي يربط العلاقة بين هذين المفهومين من خلال الشكل ادناه:



شـكل (24- 1) مفهوم الضـبط والدقة. a–النتائج عالية الدقه والتوافقيه. b–النتائج دقيقه ولكنها غير متوافقه. c–النتائج غير دقيقه ولكنها متوافقه. d–النتائج غير دقيقه وغير متوافقه.

التكرارية والاستنساخية (Repeatability & Reproducibility)

دراسة التكرارية والاستنساخية مهمة في عملية تقييم دقة قياس العملية التحليلية ويكون من المهم في قياس المعايرة المناســبة قبل البدء في قياس التكرارية والاســتنســاخية. ومن خلالهما يمكن ان نحدد الخطا العشوائي الذي يحصل في تحليل النتائج.

يعبر عن الدقة بمفهومين مهمين وهما:

1– الاستنساخية (Repeatability) وهي الدقة أو التوافق الذي يمكن الحصول عليها باستخدام نفس الطريقة التحليلية على نفس المادة وتحت نفس الظروف (المحلل، الجهاز، المختبر) وفي فترة قصــيرة من الوقت. وتســمى هذه بالمتغيرات ضــمن المختبرات وعبر عنها بالمعادلة الأتية:

$$r = t \times \sqrt{2} \times \sigma_r$$

اذ تســـتخرج قيمة (t) المجدولة ذي الجانبين لعدد من درجات الحرية (φ=n-1) في مستوى 95% من الثقة. وهذه ايضـا تسـمى بالتغاير ضـمن المختبرات (within- lab variation) وهي عبارة عن الجذر التربيعي لمربع التباين

$$\sigma_r = \sqrt{\sigma^2_{within}}$$

2- التكرارية (Reproducibility) وهي الدقة أو التوافق الذي يمكن الحصـــول عليها من اســـتخدام نفس الطريقة على نفس المادة تحت ظروف مختلفة (اي مختلف المحللين والأجهزة المستخدمة والمختبرات) وعبر عنها بالمعادلة الآتية

$R = t \times \sqrt{2} \times \sigma_R$

أو يسمى بالتغاير الكلي ويحسب بربط التباين بين المختبرات والتباين ضمن المختبرات

$\sigma_r = \sqrt{\sigma^2_{bet} + \sigma 2_{within}}$

الصفات العامة التكرارية والاستنساخية:

1- من خلالها يمكن تحديد الخطأ الحاصل في نتائج التحليل.

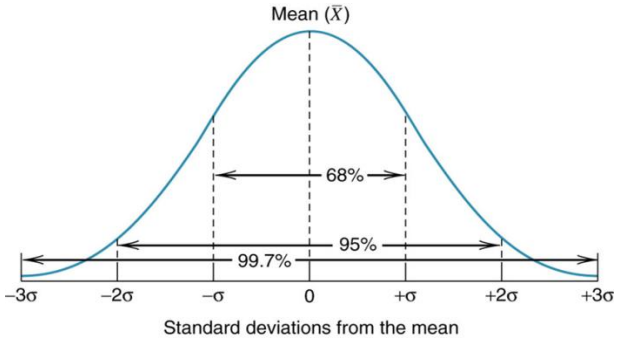
2- اذا كانت النتائج للتكرارية والتطابقية لا تتجاوز 10% فيمكن الحكم على صحة النتائج ممتازة.

3- عندما تكون قيمه التكرارية والتطابقية 15% يعني ان هناك 15% من التباين في النتائج يكون بسبب نظام القياسات.

4- اذا حصل التباين في التكرارية قد يكون سببه اجهز القياس اما اذا حصل التباين في التطابقية فيمكن ان يكون سببه اختلاف المحللين.

القانون الطبيعي للاخطاء العشوائية (Normal Law of Random Errors)

عند إجراء قياسات متكرره عديدة لنفس العينة ولغرض معرفة القيمة الاكثر احتمالا نفترض ان انحراف القيم عن متوسطها الحسابي يسلك سلوك المنحني الطبيعي للاخطاء أو ما يسمى بتوزيع كاوس (Gaussian Distribution).



شكل (24- 2) منحنى الخطأ الطبيعي normal error curve

ان المساحة التي يضمها منحني التوزيع للاخطاء والواقعة بين قمتين يمكن معرفتها عن طريق حساب انحراف كل من القمتين عن المتوسط الحسابي والتعبير عن هذا الانحلاف بدلالة الانحراف القياسي ثم حساب النسبة المئوية للمساحة:

للتوزيع الطبيعي ذو المعدل μ والانحراف القياسي σ، (i) حوالي 68% من قيم المجتمع تقع ضمن (±1σ) من المعدل (ii) وحوالي 95% من قيم المجتمع تقع ضمن (±2σ) من المعدل. كما إن (iii) حوالي 99.7% من قيم المجتمع تقع ضمن (±3σ) من المعدل.

يستدل من ذلك ان احتمال وقوع قراءة أو قيمة مقاسة خارج القيم $\bar{x}$ (±σ) يساوي 31.7% واحتمال وقوعها خارج القيم $\bar{x}$ (±2σ) يساوي 4.6% واحتمال وقوعها خارج القيم (±2σ) يساوي 0.3% ومن هذا يدلنا على اصطلاح احصائي اخر يعرف بحد الثقة (confidence limit) اي انه اذا لم نعرف القيمة الحقيقة (μ) للنتيجة المختبرية فان احتمال وقوعها ضمن احتمالية أو مستوى ثقة.

– حدود الثقة confidence limit أو فاصل الثقة confidence interval (CI)

يعبر الانحراف القياسي عن دقة طريقة التحليل لكنة بمفردة لا يعطي اي معلومات حول مدى قرب المعدل التجريبي ($\bar{X}$) عن القيمة الحقيقية (μ). وعن طريق النظرية الاحصائية يمكننا تقدير المدى الذي يمكن ان تقع ضمنة القيمة الحقيقية باحتمال معين وذلك باستخدام المعدل ($\bar{X}$) والانحراف القياسي (S) وهذا المدى يسمى بفاصل الثقة

(confidence interval) وحدوده تسمى بحدود الثقة (confidence limit) ويمكن حساب حدود الثقة باستخدام القانون الاتي:

حدود الثقة= $\bar{x}$ ±ts/√n

اي ان القيمة الحقيقية ضمن هذا المدى:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

t=معامل احصائي يعتمد على درجات الحرية وعلى مستوى الثقة المطلوبة ويسمى باختيار t كما سنرى فيما بعد. ويمكن الحصول على قيمة t عند مستوى الثقة المطلوبة وعند درجات الحرية المستخدمة في ادناه.

S= الانحراف القياسي، n= عدد القياسات، $\bar{X}$= المعدل

نلاحظ من المعادلة اعلاه انه كلما يزيد عدد النتائج فان كل من قيمة t،s/√n سوف يقل وينتج من ذلك ان مدى الثقة يضيق. ولذا كلما زاد عدد القراءات أو النتائج كلما زادت ثقتنا بان القيمة الحقيقية تقع ضمن هذا المدى الضيق.

مثال5: عند معايرة عينة تحتوي على كاربونات الصوديوم مع محلول حامض الهيدروكلوريك وعند تكرار المعايرة ثلاث مرات حصلنا على النتائج الاتية:

.93 .58%،93 .43%،93 .30%.

الحل: حدود الثقة= $\bar{x}$ ts/√n

$\bar{X}$ =∑XI/3 = 93.50

S= √∑$(X)^2$- x)/n–1=

S = 0.075

اذن حدود الثقة =93.50± 4.3 x 0.075/√n =93.50± 0.19%

وعند الرجوع إلى الجدول نجد قيمة t عند مستوى ثقة 95% وعند درجات حرية n−1 (3-1=2) يساوي 4.3 وبتطبيق معادلة حدود الثقة كانت قيمة جدود الثقة يساوي 93.50±0.19% اي اننا نثق 95% بان القيمة الحقيقية تقع ضمن المدى من 93.31% إلى 93.69%.

مثال 6: تم النظر إلى تراكيز عنصر التيتانيوم في ماء البحر القياسي كما في البيانات الاتية:

Data: 1.34, 1.15, 1.28, 1.18, 1.33, 1.65, 1.48 nM

DF = n – 1 = 7 – 1 = 6

$= 1.3_4$ nM or 1. 3 nM

$s = 0.1_7$ or 0.2 nM

95% confidence interval

$t_{(df=6,95\%)} = 2.447$

$CI_{95} = 1. 3 \pm 0. 16$ or $1. 3 \pm 0. 2$ nM

50% confidence interval

$t_{(df=6,50\%)} = 0. 718$

$CI_{50} = 1.3 \pm 0.05$ Nm

جدول (24- 1) قيمة t إلى υ درجات الحرية بمستويات ثقة مختلفة

	Confidence Level			
ν	90%	95%	99%	99.5%
1	6.314	12.706	63.657	127.32
2	2.920	4.303	9.925	14.089
3	2.353	3.182	5.841	7.453
4	2.132	2.776	4.604	5.598
5	2.015	2.571	4.032	4.773
6	1.943	2.447	3.707	4.317
7	1.895	2.365	3.500	4.029
8	1.860	2.306	3.355	3.832
9	1.833	2.262	3.250	3.690
10	1.812	2.228	3.169	3.581
15	1.753	2.131	2.947	3.252
20	1.725	2.086	2.845	3.153
25	1.708	2.060	2.787	3.078
∞	1.645	1.960	2.576	2.807

[a] $\nu = N - 1$ = degrees of freedom.

رفض أو استبعاد النتيجة المختبرية Rejecting experimental result

ان اتفاق النتائج قد يكون علامة جيدة على صحتها كما ذكرنا سابقا الا ان في بعض الاحيان قد تظهر فروق كثيرة بين النتائج المتكررة وفي هذه الحالة يجب تعيين مقدار الانحراف واستبعاد بعض النتائج حتى نحصل على احسن قيمة للمتوسط الحسابي ويمكن اتباع هذه الطرق:

1- قاعدة اربع اضعاف معدل الانحراف وتنص هذه القاعدة على مايلي: عند ظهور احدى النتائج في سلسلة من القياسات تختلف اختلافا كبيرا عن باقي القراءت نستبعد القراءة المشكوك فيها ويحسب الوسط الحسابي ومعدل الانحراف لبقية النتائج وكذلك يحسب انحراف النتيجة المستبعدة عن الوسط الحسابي لبقية القراءات فاذا كان انحراف القراءة المستبعدة يساوي أو اكبر من اربعة اضعاف معدل انحراف بقية النتائج عن وسطها الحسابي فيمكن اهمال النتيجة المشكوك فيها وبعكسه لا يجوز استبعادها ويتطلب ضمها إلى بقية النتائج واعادة حساب الوسط الحسابي والانحراف.

مثال 7: قيس حجم قاعدة معينة بتسـحيح حامض مجهول لعدة مرات وكانت النتائج كما مبينة في الجدول الاتي، بين هل بالامكان اهمال القراءة 11.40؟

xi	di
10.9	0.11 -
11.12	0.11
11.40	?
11.02	0.01

الحل:

نستبعد القراءة المشكوك فيها مؤقتاً ونستخرج X ومتوسط الانحراف لبقية النتائج.

1- معدل الانحراف =∑di/n

di=xi- $\bar{X}$

$\bar{X} = \frac{\sum xi}{n} = \frac{33.04}{3} = 11.01$ الوسط الحسابي

معدل الانحراف = ∑di/n =3/0.01=0.076

2- نجد انحراف القيمة المستبعدة

$di=xi_1 - \bar{X}2 = 11.40 - 11.01 = 0.39$

3- نجد اربع اضعاف معدل الانحراف = 4 x 0.076 = 0.304

انحراف القيمة المستبعدة اكبر من اربع اضعاف اذ يجب ان تستبعد من القراءات الاخرى

2- **اختبار كيو Q- test**

يسـتخدم اختبار Q لاسـتبعاد أو رفض نتيجة ما عندما تكون القيمة العددية (m) بين 3 و10 ويمكن اجراء هذا الاختبار عند مستوى من الثقة مساوي إلى 90%، 96%، 99% أو مستويات اخرى الا انه يجري عادة على مستوى الثقة 90% اي ان النتيجة المشكوك بها تسـتبعد على اسـاس انها تختلف عن النتائج الاخرى بقدر من الثقة يبلغ 90% وفي هذه الحالة يرمز لنسب الاستبعاد بالرمز $Q_{0.90}$.

Q= الاختلاف بين القيمة المسـتبعدة واقرب قيمة عددية لها/ القيمة العددية الكبرى – القيمة العددية الصغرى

Q= الاختلاف أو الانحراف عن المدى/ المدى. بعد ترتيب الارقام تنازليا أو تصاعديا

وبهذه الطريقة يمكن استبعاد اي قيمة عددية تكون قيمة Q المحسوب لها اكبر من قيمة Q الحرجة أو المجدولة عند مستوى ثقة 90% والمينة في الجدول الاتي:

مثال: جرى تحليل نماذج معينة من خامات الكالسيوم وجد ان النسبة المئوية لاو كسيد الكالسيوم هي كما يلي: 56.04,56.23,56.08,55.95,56.00 وقد لوحظ ان القيمة 56. 23 اعلى القيم بكثير من بقية النتائج. بين مدى امكانية اهمال هذه النتيجة عند مستوى ثقة 90%؟

الحل:1- ترتب النتائج اما تصاعدياً ام تنازلياً.

2- نحسب قيمة Q=الاختلاف في المدى (الفرق بين القيمة المستبعدة- اقل قيمة لها/ المدى (اكبر قيمة – اصغر قيمة)

Q=56.23–56.08/56.23–55.95=0.54 مقارنتها مع Q في الجدول قيمة Q الحرجة بمستوى ثقة 90%=0. 64

بما ان قيمة Q المحسوبة (0.54) اصغر من قيمة Q الحرجة بمجال ثقة 90% اذ نستنتج عدم امكانية اهمال النتيجة 56.23 ويجب ضمها إلى بقية النتائج.

جدول (24- 2) قيمة Q بحدود ثقة مختلفة

No. of Observations	Confidence Level		
	Q_{90}	Q_{95}	Q_{99}
3	0.941	0.970	0.994
4	0.765	0.829	0.926
5	0.642	0.710	0.821
6	0.560	0.625	0.740
7	0.507	0.568	0.680
8	0.468	0.526	0.634
9	0.437	0.493	0.598
10	0.412	0.466	0.568
15	0.338	0.384	0.475
20	0.300	0.342	0.425
25	0.277	0.317	0.393
30	0.260	0.298	0.372

اختبارات احصائية للمقارنة بين طرائق التحليل أو المحللين

عند تطوير طريقة تحليلية جديدة فاننا نقارن نتائجها مع النتائج التي نحصـــل عليها باستخدام طريقة قياسية معروفة وموثوق بها. وبتطبيق الاختبارات القياسية نستطيع ان

نحكم فيما اذا كان هناك فرق واضـح بين الطريقتين ام لا. ونفس الشـيء يقال عندما نريد ان نختبر مقدرة محلل كيمياوي وذلك بمقارنـة نتـائجـه مع نتائج محلل اخر موثوق بـه باستخدام نفس طريقة التحليل ومن هذه الطرق:

1- اختبار F او F test

يستخدم اختبار F لمعرفة فيما اذا كان يوجد فرق معنوي في الدقة بين طريقتين أو محللين ويمكن ايجادة من العلاقة الاتية:

$F=S^2_1/S^2_2$ ،S^2= حد التباين variance

S^2_1= تباين الطريقة الاولى أو المحلل الاول، S^2_2= تباين الطريقة الثانية أو المحلل الثاني. ويجب ان يكون S^2_1 اكبر من S^2_2 مما يجعلنا ان نضـــع دائما S^2_1 في البســط بصرف النظر كونها تابعة للطريقة القياسية أو المختبرية وان قيمة F اكبر أو تساوي 1 وبعد حســـاب قيمة F التجريبية نرجع إلى قيم المبينة في الجدول عند مســـتوى الثقة المطلوبة فاذا كانت قيمة F التجريبية والتي حسبت من المعادلة السابقة اصـغر من قيمة F من الجدول فاننا نحكم بثقة 95% على ان لا يوجد فرق واضــح بين دقة الطريقتين أو المحللين اما اذا كانت اكبر فان ذلك يدل على فرق واضح بين الطريقتين أو المحللين.

2- اختبار t أو t test: يستخدم هذا الاختبار للمقارنة بين مصداقية طريقتين أو نتائج تحليل حيث تحسب قيمة t التجريبية من المعادلة ثم نقارنها مع قيمة t في الجدول عند درجات الحرية المعينة وعند مستوى الثقة المطلوبة، فاذا كانت قيمة t المحسوبة اكبر من قيمة t في الجدول فان ذلك يدل على وجود فرق واضح في مصداقية الطريقتين أو نتائج المحللين، فاذا كانت اصغر فانه يدل على ان المصداقية متشابهة في الحالتين.

1- اذا كانت القيمة الحقيقية (μ) معروفة ونريد اختبار مصداقية طريقة جديدة اذ نستخدم محلول قياسي معروف التركيز في هذه الحالة نستخدم العلاقة الاتية:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

أو

$\pm t = (x- \mu)\sqrt{n}/s$، دائماً تاخذ الموجب عند مقارنتها مع الجدول.

2- اما في حالة وجود عدد من التحاليل كتحليل السـكر أو اليوريا في الدم وغيرهما في مختبرين كل منهما يعطي نتائج مختلفة اي يشـكل عام مقارنة طريقتين ولنماذج متعددة نتبع العلاقة الاتية:

$$\text{Test statistic; } |t| = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

وتحسب قيم (Sp) من المعادلة الآتية

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

مثال 9: افترض انك طورت طريقة جديدة لتقدير الرصـاص بالامتصـاص الذري ولكي نختبر مدى مصـداقية طريقتك حصـلت على محلول قياسـي للرصـاص ذو تركيز معلوم يسـاوي 11.7ppm وقمت بتحليل هذا المحلول بطريقة جديدة وكررت التحليل 5 مرات وكان معدلها 10.8ppm وانحراف قياسـي 0.7ppm. هل الطريقة الجديدة اعطت نتيجة صحيحة من وجهة نظر احصائية عند مستوى ثقة 95% ؟

الحل: بتطبيق المعادلة اعلاه وبالتعويض نحصل مايلي:

$t=(10.8- 11.7)\sqrt{5}/0.7=2.9$

بالرجوع إلى جدول قيم t نجد ان قيمة عندما تكون درجات الحرارة (5-4=1) بمسـتوى ثقة 95% (t=2.7). واذ ان قيمة t المحسوبة اعلى من قيمة t الجدولية فيمكننا ان نحكم بثقة 95% ان طريقتنا لم تعطي النتيجة الصـحيحة اي انها غير صـادقة وان هناك خطأ نظامي فيها ولابد من تلافية وتصحيحها.

مثال 10: تم استخدام طريقتين لتعيين الكروم في عشب الجوادر (rye grass) وكانت النتائج (مغم/ كغم كروم) كما يلي:

الطريقة 1: المعدل= 1.48 والانحراف القياسي= 0.28

الطريقة 2: المعدل= 2.33 والانحراف القياسي=0.31

وجرى لكل طريقة 6 قياسات متكررة. هل إن هاتين الطريقتين تعطي نتائج لها معدلات تختلف معنويا.

الحل:

Ho: $x_1 = x_2$

$H1: x_1 \neq x_2$

بما أن المعدلين تم حســـابهما مســـبقا لذا يســـتلزم ايجاد الانحراف أو التباين الكلي للطريقتين:

$S^2 = (6-1)(0.28)^2 + (6-1)(0.31)^2/ (6+6-2) = 0.08725$
$S= 0.295$

$t = (0.295 \sqrt{(1/6 +1/6)})/ 2.33 – 1.48$
$= 4.99$

من الجدول الذي بين يديك لاحظ إن قيمة t الحرجة (المجدولة) تساوي 2. 23 عند احتمالية (p=0. 05) أو في مستوى 95% من الثقة ودرجة حرية تساوي 10. بما أن القيمة المحسوبة أو التجريبية لـ (t) اكبر من القيمة المجدولة فعلية ترفض الفرضية الصفرية ونقبل بالفرضية البديلة، وهذا يدل على وجود اختلاف معنوي بين الطريقتين، أي أن $x_1 \neq x_2$.

العلاقة بين المتغيرات regression analysis

في الكيمياء التحليلية غالبا ما تكون العلاقة بين التركيز والخاصـية الفيزياوية المقاسـة في جهاز ما مثل (الامتصـاص، الانبعاث، تيار الانتشـار، الجهد...) علاقة خطية ولذا نلجا إلى طريقة منحنى المعايرة وذلك بتحضير عدة محاليل قياسية ثم نرسم العلاقة بين تركيز المحاليل القياسـية والخاصـية الفيزياوية المقاسـة لكل منها حيث نحصـل على عدة نقاط غالبا ما تكون مبعثرة نسبيا وباستخدام البرامج الخاصة لنحصل على افضل خط مستقيم يمر بهذه النقاط. هذه الطريقة البسيطة لرسم الخط المستقيم عادة ما تكون غير دقيقة لذا فانه عندما تكون النقاط مبعثرة بشـــكل كبير نلجا إلى اســـتخرج معادلة الخط المســـتقيم الاتية:

$y=b+mx$

اذ ان (y) المتغير المعتمد (dependent variable) وهي الاسـتجابة مثل الممتصـية، الشدة، تيار الانتشار أو الجهد.

(x) المتغيير المستقل (independent variable) وهو التركيز.

(b) نقطة تقاطع الخط المستقيم.

(m) ميل الخط المستقيم.

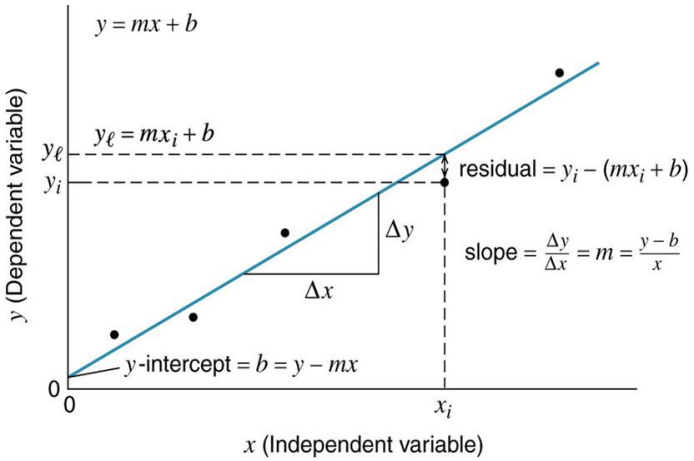
اذ ان ,Y،X يمثلان المتغيرات مثل (التركيز والامتصاص) وعند تحديد كل من a و b فقد حددنا الخط المستقيم ويمكن احصائيا تعيين كل منهما:

$$m = \frac{|x_i - \bar{x}y_i - \underline{y}|}{|(x_i - x)^2|}$$

ونقطة التقاطع تحسب من المعادلة الآتية:

b=y−mx

وتسمى الطريقة السابقة لايجاد افضل خط مستقيم بطريقة اقل التربيعات least square method وكما موضح في الشكل (24−3).



شكل (24- 3) رسم الخط المستقيم Straight- line plot

معامل الارتباط (r) correlation coefficient

تعريف وفؤائد الارتباط:

1− درجة واتجاه العلاقة بين متغيرين تحت ظروف تحليل الارتباط:

2− قياس الارتباط يدعى بمعامل الارتباط correlation coefficient.

3− درجة العلاقة التي يعبر عنها المعامل ضمن مدى من الارتباط $(-1 \leq r \geq +1)$.

4− اتجاه التغيير يشار اليه باشارة.

5− من خلال تحليل العلاقة يمكن ان تزودنا بدرجة واتجاه العلاقة بين متغيرين تحت الدراسة.

6- الارتباط اداة احصائية تساعدنا على قياس وتحليل العلاقة بين متغيرين.
7- تحليل الارتباط يتعامل مع العلاقه بين اثنين أو أكثر من المتغيرات.
ويوجد نوعين من الارتباط:
1 - الارتباط الموجب positive correlation:ويصل اذا كانت قيمة المتغيرين تتغير مع نفس الاتجاه. اي اذا زادت x زادت y أو اذا نقصت x تنقص y.
2- الارتباط السالب negative correlation: متى ما كانت قيمة الارتباط تتغير عكس الاتجاه. اذا زادت x نقصت y أو اذا نقصت x زادت y.
يستخدم معامل الارتباط (r) لقياس مدى ارتباط عاملين متغيرين هما (x و y) ويمكن تعيينه بالعلاقة الاتية:

$$R = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum_i [(x_i - \bar{x})^2] \sum_i [(y_i - \bar{y})^2]}}$$

أو من القانون الآتي:

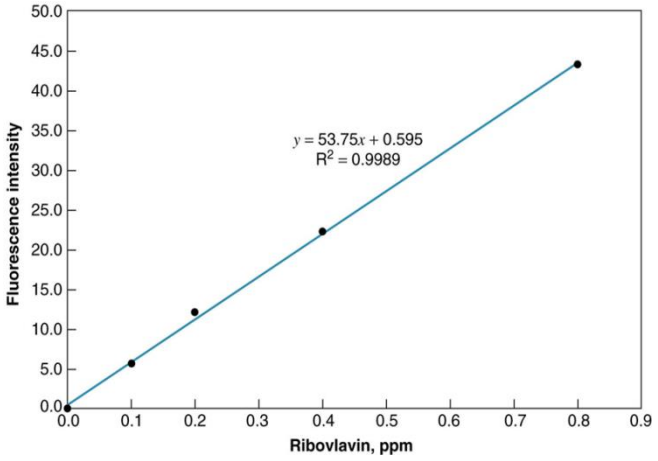
$$r = \frac{|(x_i - x)(y_i - y)|}{n s_x s_y}$$

n هو عدد النتائج
S_x الحيود القياسي للنتائج x
S_y الحيود القياسي لـــ y بينما x_i وY_i تمثل القيمة الفردية لكل من x و y والتي معدلها x و y على التوالي ولسهولة الحسابات خاصة باستخدام الحاسوب تحور المعادلة اعلاه كما يلي:

$$r = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sqrt{\left(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}\right)\left(\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n}\right)}}$$

الحد الاعلى لقيمة r = وعندما تساوي 1 فان ذلك يدل على الارتباط التام بين المتغيرين (ارتباط مثالي) وعندما r=0 فان ذلك يدل على عدم الارتباط بين x و y اي ان x مستقلة تماما عن y (النقاط تظهر متبعثرة).
ان اصغر قيمة الىr تساوي - 1 (يعني العلاقة عكسية) وعندما تكون قيمة r بالسالب فان هذا يدل على ان العلاقة بين x و y علاقة عكسية ويمكن استخدام معامل الارتباط للمقارنة بين نتائج طريقتين فمثلا اذا قمنا بتحليل محلول ما بطريقة جديدة ثم اردنا مقارنة

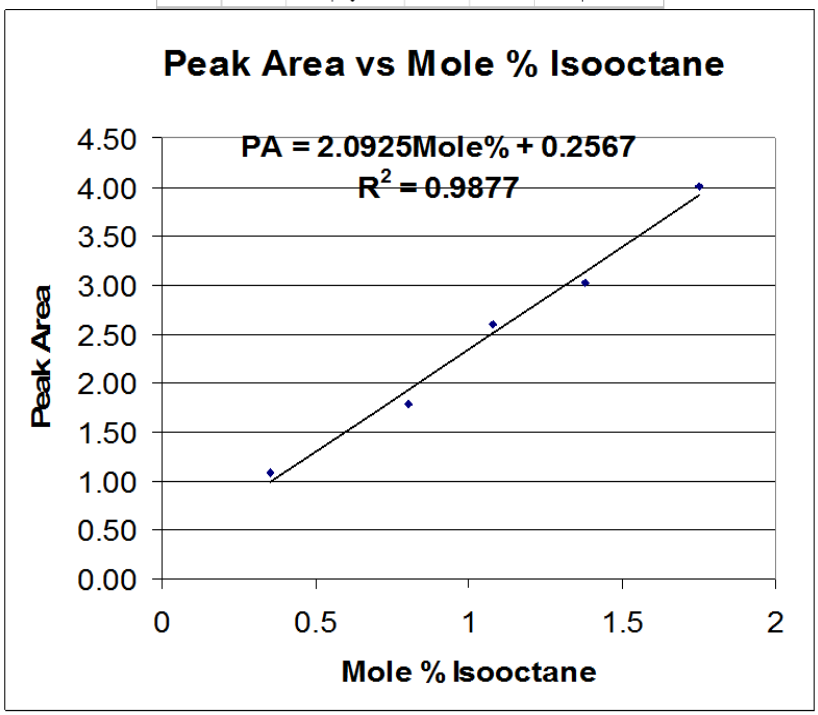
ذلك بطريقة قياسية معروفة نستطيع عن طريق حساب معامل الارتباط ان نتاكد من مدى ارتباط نتائج الطريقة الجديدة بنتائج الطريقة القياسية، كما يمكن استخدامه لقياس أو حساب منحني التغيير القياسي للتاكد من مدى ارتباط الخاصية الفيزياوية المناسبة مثل الامتصاص أو الانبعاث... الخ بالتغيير في التركيز ،والجدول(23-3) والشكل(23-5) يبينان المعلومات التي يمكن الحصول عليها من خلال منحنى المعايره ومنها معامل الارتباط r. وكقاعدة عامة اذا كانت r اصغر من 0.95 واكبر من 0.90 فان ذلك يدل على ان المنحني مقبول اما اذا كانت rمحصورة بين 0.95 و0.99 يدل على ان المنحني جيد واذا كانت قيمته اعلى من 0.99 فيكون المنحني ذات علاقة خطية ممتازة الشكل(23-4).



شكل (24- 4) منحني المعايرة (calibration curve)

جدول (24- 3) يمثل التحليل الاحصائي لمركب ايزواو كتان ضمن خليط هيدروكربوني من ناتج تحليله باحد الطرق الكروماتوكرافية.

Calibration Data for a Chromatographic Method					
for the Determination of Isooctane in a Hydrocarbon Mixture					
Mole %	Peak				
Isooctane	Area	Statistics			
0.352	1.09	Slope	2.09	0.26	Intercept
0.803	1.78	Std Dev	0.13	0.16	Std Dev
1.08	2.60	R^2	0.99	0.14	Std Error of Estimate
1.38	3.03	F	241.15	3.00	Degree Freedom
1.75	4.01	Sum sq regression	5.02	0.06	Sum Sq Residuals



شكل (24- 5) منحني المعايرة لمركب ايزواو كتان كمثال

الحساسية وحد الكشف sensitivity and detection limit

تعرف الحساسية بانها تساوي ميل المنحني أو بعبارة اخرى تساوي التغيير باستجابة الجهاز (dI) على التغيير في التركيز (dc) أي:

Se =di/dc

عندما تكون الاستجابة خطية لكل مادة هذا يدل على ان الحساسية ثابتة في مجال المنحني المرسوم ، الا ان الحساسية الاعلى للمادة التي يكون ميلها اكبر، نظرا لان ميل

المنحني يمكن ان يعبرعن حساسية المادة . وفي بعض الحلات مثلاً يمكن التعبير عن الحساسية بمقدار المادة (التركيز) اللازم لاعطاء استجابة معينة في الجهاز كما هو الحال في الامتصاص الذري اذ تعرف الحساسية بان التركيز (ug/ml) الذي يعطي 0.0043 وحدة امتصاص اما حد الاكتشاف فيعرف بأنه اقل كمية من المادة يمكن تمييزها عن محلول خلب (المحلول الذي لا يحتوي على المادة المحللة) ويرمز لاستجابة الجهاز عند وجود محلول العينة بالرمز si (single) اما استجابة الجهاز للمحلول الخالي فيرمز له N (Noise).

ان النسبة Si/N مهمة جداً عند ايجاد حد الكشف فكلما تصغر قيمة N كلما كبرت هذه النسبة وكلما صغر حد الكشف كلما كانت الطريقة افضل.

لوحظ انه لا يمكن استخدام المكبر لتكبير الاستجابة لانه لا يؤثر على تلك النسبة نظرا لانه يؤثر على Si بنفس المقدار الذي يؤثر على N لذا فانه للحصول على حد الكشف صغير لابد من محاولة جعل Si صغيرة دون التاثير على N. ومن وجهة نظر احصائية يمكن تعريف حد الكشف (L) بانة يساوي ضعف الحيود القياسي للطريقة:

L=2S

وهذا يعني ان تكون النسبة بين ذروة الاشارة لاقل تركيز وذروة الناتجة من الضوضاء كاساس لتحديد حد الكشف كما مبين في الشكل(24-6).

Peak- to- peak noise level as a basis for detection limit

شكل (24- 6) النسبة بين الذروة وضوضائها

أو يمكن تعينها من خلال منحني المعاير عن طريق تعيين الانحراف المعياري والانحدار من خلال المعادلة الاتية:

$$LOD=3S_{y/x}/m$$

m= تمثل الانحدار وهو صفة لحساسية الطريقة كما في الشكل (23-7).

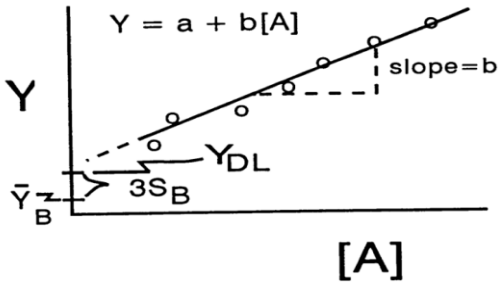
A. Iupac Definition

$Y_{DL} = \bar{Y}_B + 3\sigma_B$

[A] = analyte conc.

$A_{DL} = Y_{DL}$ /(sensitivity)

$A_{DL} = Y_{DL}$ /(b)



Procedure:

(1) Use S_B to estimate σ_B
OR
(2) Use S_A for low [A] to estimate σ_B
(where [A] ≈ 1x to 5x[A_{DL}])

شكل (24- 6) يمثل تعيين حساسية وحدود الكشف للطريقة التحليلية

تحليل التباين (Analysis of Variance)

تعود فكرة مصطلح "تحليل التباين" للعالم الاحصائي فيشر (Fisher) كأداة احصائية فعالة لاختبار معنوية اكثر من طريقتين تحليليتين أو محللين يقومون بتجارب عدة أو ظروف مختلفة لخزن مادة كيميائية للوصول إلى استنتاج عام بوجود أو عدم وجود اختلاف معنوي بين الطرق أو المحللين أو ظروف الخزن الخ. تستخدم التباين كأساس للتعرف على معنوية الاختلاف بينهما.

وعلية فان تحليل التباين " Analysis of Variance" ومختصرة "Anova" أداة إحصائية فعالة في فصل وتقدير الأسباب المختلفة للتغاير. ويستخدم تحليل التباين لفصل أي تغاير يعود إلى تغير العامل المسيطر (Controlled factor) من التغاير نتيجة للخطأ العشوائي (Random- effect factor) وعليه يمكن اختبار فيما إذا كان تغاير العامل المسيطر يؤدي إلى اختلاف معنوي بين قيم المتوسطات الحسابية التي تم الحصول عليها.

بصورة عامة إذا كان الاختبار يخص مدى تأثير متغير واحد على العينات فانه يسمى بتحليل التباين الوحيد أو ذو الاتجاه الواحد " one- way ANOVA". أما إذا كان:

Mean

---

sample $_1$ x_{11} x_{12} . . . . . x_{1j} . . . . . x_{1n} x_1
sample $_2$ x_{21} x_{22} . . . . . x_{2j}. . . . . x_{2n} x_2 sample $_3$ x_{31} x_{32}. . . . . x_{3j}. . . . . x_{3n} x_3

sample $_i$ x_{i1} x_{i2}. . . . . x_{ij}. . . . . x_{in} xi

sample $_h$ x_{h1} x_{h2} . . . . . x_{hj}. . . . . x_{hn} x
overall mean = x

المطلوب معرفة مدى تأثير أكثر من متغيرين فان الطريقة تسـمى عندئذ بتحليل التباين المتعدد "multiple or two- way ANOVA". ولغرض توضـيح فكرة تجزئة تحليل التباين ذي الاتجاه الواحد أو يسمى احيانا لمعيار واحد نفترض ان لدينا (h) من العينات وفي كل عينة (n) من القياسات أو المفردات كما في الجدول ألاتي:
أي إن هنـاك h من العينـات (أو مثلا طرائق، محللين، ظروف خزن، حقول زراعيـة الخ...) وكل عينة تحتوي على n من القياسـات وان معدلات العينات x_1, x_2, ... x_h ومعدل كل القيم للمجوعة هو x. إن قبول الفرضـية الصـفرية (H_0) تقول بان كل العينات من نفس المجتمع بمعدل μ وتباين σ^2 وعلى أساس هذه الفرضـية يمكن تقدير التغاير أو التباين (σ^2) باتجاهين. يتضـمن الاتجاه الاول تقدير التباين ضـمن العينات within- sample variation واما الثاني حسـاب التباين بين العينات "between- sample variation". وفيما يلي طريقة تحليل التباين لعينات تعتمد مفرداتها على متغير واحد.
الجدول (23-4) يبين نتائج تم الحصـول عليها من تحقق ثبات مادة كيميائية فلورية مخزونة تحت ظروف مختلفة. والقيم المذكورة تمثل إشـارات الفلورة (وحدات اعتباطية) لمحاليل مخففة متساوية التركيز من هذه المادة الفلورية إذ جرى ثلاثة قياسات متكررة لكل محلول.
كما يبين الجدول ان قيم المعدل (المتوسط الحسابي) للمحاليل الأربعة تختلف تماما.

الجدول (24- 4) إشارة الفلورة للمحاليل المخزونة تحت ظروف مختلفة.

Sample (conditions)	Replicate measurements	mean
A freshly prepared	102, 100, 101	101
B stored for 1 hr in the dark	101, 101, 104	102
C stored for 1 hr in subdued light	97, 95, 99,	97
D stored for 1 hr in bright light	90, 92, 94	92
Overall mean		98

1- التباين ضمن العينات within-sample variation

يحسب التباين σ^2 لكل عينة من الصيغة الرياضية الآتية:

$$\sigma^2 = \frac{\Sigma(xi-x)^2}{n-1}$$

Variance of sample A = $(102-101)^2 + (100-101)^2+(101-101)^2 = 1$

Variance of sample B = $(101-102)^2 + (101-102)^2+(104-102)^2 = 3$

Variance of sample D = $(90-92)^2 + (92-92)^2+(94-92)^2 = 4$

ثم نستخرج معدل قيم التباين من اعلاه:

Within- sample estimate of $\sigma^2 = (1+3+4+4)/ 4 = 3$

هذا التباين التقديري له 8 درجات حرية (لكل عينة 2 × 4 عينات). لاحظ إن هذا التقدير لا يعتمد على معدلات العينات. فمثلا، إذا تم زيادة قياسات العينة A إلى 4 هذا التباين التقديري لا يتغير. وعلاة فان الصيغة العامة للتقدير σ^2 ضمن العينات تكون كآتي:

$$\text{Within- sample estimate of } \sigma^2 = \Sigma (xi-x)^2/ h(n-1)$$

إن المجموع خلال i والقسمة على (n−1) تمثل تباين كل عينة. أما المجموع خلال i والقسمة على h تمثل معدل تباين هذه العينات. فالتعبير عن المعادلة اعلاه يعرف بمعدل المربعات (MS) لانه يشمل مجموع المربعات (SS) مقسوم على عدد درجات الحرية

$SS_{within} = SS_1 + SS_2 +...$

ومعدل مجموع المربعات ضمن العينات:

$MS_{within} = SS_{within}/ df_{within}$

بما إن في هذه الحالة عدد درجات الحرية يساوي 8 ومعدل المربعات هو3 فان مجموع المربعات (SS_{within}) يكون 3x8 = 24.

2- التباين بين العينات between-sample variation

يحسب التباين بين العينات من الصيغة الآتية:

$$\text{Between -sample estimate of } \sigma^2 = n \Sigma (xi-x)^2/ (h-1)$$

ويعرف هذا الحد بمعدل المربعات بين العينات ويرمز لـه ($MS_{between}$)، أي مجموع حدود المربعات مقسوماً على عدد درجات الحرية. إذا عدنا إلى المثال نستطيع أن إيجاد معدل التباين للعينة كالآتي:

$(101-98)^2+ (102-98)^2+ (97-98)^2+ (92-98)^2$

Sample mean variance = 62/3

هكذا فان التباين التقديري بين العينات (σ^2) يكون **(3/62)× 3 = 62.** وهذا التقدير له 3 درجات حرية لانه تم حسابة من معدلات أربعة عينات. كما ينبغي ملاحظة أن σ^2 لا تعتمد على التغايرية ضمن كل عينة لانه جرى حسابها من معدلات العينة. وعلية فان مجموع حدود المربعات هو 62X3 = 186.

خلاصة الحسابات هي:

Within-sample mean square (MS_{within}) = 3 with 8 d. f.
Between-sample mean square ($MS_{between}$) = 62 with 3 d. f.

إذا كانت الفرضية الصفرية صحيحة أو صادقة فان هذين التباينين يجب أن لا يختلفا معنويا. أما إذا كانت غير صحيحة فان التباين بين العينات سيكون اكبر من التباين ضمن العينات ولاختبار بأنه اكبر معنويا يستخدم اختبار (F– test) ذي الاتجاه الواحد:

F= 62/ 20.7 = 3

ومن جدول (F) فان القيمة الحرجة (المجدولة) تساوي 4.066 عند مستوى 95% من الثقة. بما إن قيمة F المحسوبة (20.7) اكبر من المجدولة فان الفرضية الصفرية ترفض ونقبل بالفرضية البديلة ونستنتج بان معدلات العينة تختلف معنويا. ولكتابة جدول تحليل التباين للمثال اعلاه:

جدول تحليل التباين

مصدر التباين	درجات الحرية	مجموع المربعات	متوسط المربعات	F
بين العينات	3	186	62	62/ 20.7 = 3
ضمن العينات (الخطأ)	8	24	3	
الكلي	11	210		

اسئلة الفصل الرابع والعشرون

1- ما الفرق بين دقة النتائج وضبط النتائج.

2- ما المقاييس الثلاثة التي تعين مدى توافق النتائج وما المقياس المفضل لعينة تحتوي على خمس نتائج.

3- احسب المعدل والوسيط والمعدل الهندسي لعينة النتائج الاتية والمعطاة كنسب مئوية. 10.20,7.00,9.80,11.00,10.20، 11.00، 11.00 وبين ايهما المفضل كمقياس للنزعة المركزية.

4- تبين النتائج الاتي: النسبة المئوية للزرنيخ في احدى العينات:

10.00%، 10.10%، 11.00% وضح:

ا- هل يمكن استبعاد النتيجة 11.00؟

ب- هل يمكن استبعاد النتيجة السابقة على مستوى 90% من الثقة؟

ج- اذا اضيفت النتيجة 10.20% إلى النتائج السابقة فاحسب النزعة المركزية للنتائج بعد اجراء الاختبار على النتيجة 11.00 مرة اخرى.

5- قامت أربعة مختبرات بإجراء خمس قياسات متكررة لعينة لغرض تقويم طريقة تعيين الامونيا (مغم/ لتر) في محلول الامونيا. وفيما يلي النتائج:

A	B	C	D
45.0	45.2	44.9	45.3
45.1	45.1	44.8	45.2
45.1	45.0	44.8	45.2
45.1	44.9	44.9	45.3
45.1	45.2	44.9	45.4

أ- احسب معدل نتائج كل مختبر

ب- اجري حسابات تحليل التباين وبين هل يوجد اختلاف معنوي بين المختبرات؟

6- قام مهندس كيميائي بدراسة تطوير بوليمر جديد لاستخدامه في إزالة الفضلات السامة من الماء وقد أجريت تجاربه في خمس درجات حرارة مختلفة وكانت الاستجابة المقاسة هي النسبة المئوية للشوائب المزالة بعد المعالجة، بين هل أن درجة الحرارة تأثر على نسبة إزالة الشوائب؟

Temperature	1	2	3	4	5
	40	36	49	47	55
	35	42	51	49	60

42 38 53 51 62
48 39 53 52 63
50 37 52 50 59
51 40 50 51 61

7- قام ثلاث محللين كيميائيين بإجراء ستة تعيينات لمحتوى الباراستيمول في نفس الوجبة من الحبوب. وفيما يلي النتائج:

Analyst paracetamol (%m/m)

المحلل الاول 84.51, 84. 64, 84. 61, 84.63, 84.51, 84. 32

المحلل الثاني 84.30, 84. 00, 84.13, 84.41, 84. 25, 84. 24

المحلل الثالث 84.36, 84. 40, 84.28, 84.68, 84. 40, 84. 29

بين هل هناك اختلاف معنوي بين المعدلات التي تم الحصول عليها بين المحللين الستة.

8- اعطى اختبار تحليلي لعينة بعد قياسها خمس مرات كلاتي:

6.738%, 6.739%, 6.737%, 6.738%, 6.738%. هل يمكن القول ان هذه النتائج دقيقة أو مضبوطة. اشرح ذلك.

الفصل الخامس والعشرون

ممارسة المختبر الجيد: ضمان وضبط الجودة للقياسات التحليلية

GOOD LABORATORY PRACTICE:QUALITY ASSURANE FOR ANALYTICAL MEASURMENT

المقدمة:

عندما تقدم قياساً صحيحاً لاي غرض وفي اي مختبر يحب استخدام أساليب راسخة او احداث تغييرات جيدة ستحقق مقبولية (دقة) النتائج. قد تفرض علينا اغراض النتيجة التي ستستخدم اتباع ذلك كما هو الحال خصوصا إذا كان القياس لأغراض تنظيمية مهمة أو فحص يترتب عليه حل مشكلة بشكل قطعي مثل تحليل الطب الشرعي والتي قد يكون من الضروري لها دوافع في حسم قضايا في المحاكم. تطور ضمان الجودة للمختبرات كنهج لضمان تحليل نتائج صحيحة إلى أقصى حد ممكن ضمن حدود موثقة. وقد أصدرت وكالات حكومية مختلفة مثل وكالة حماية البيئة (EPA) وإدارة الغذاء والدواء (FDA) والوكالات الخاصة على سبيل المثال AOAC الدولي و ASTM توجيهات خاصة بها لممارسات المختبر الجيد GLP للتحقق من صحة الطريقة المستخدمة وضمان الجودة. الممارسات المختبرية الجيدة (GLPs) تصف عمليات المختبرات العامة التي ينبغي اتباعها في أي تحليل. وتشمل هذه الممارسات تسجيل البيانات بشكل صحيح والحفاظ على السجلات واستخدام سلسلة من حضانة للعينات التي تم إرسالها للتحليل وتحديد وتنقية الكواشف الكيميائية وإعداد الكواشف المستخدمة عادة وتنظيف ومعايرة الأواني الزجاجية وتدريب العاملين في المختبرات والحفاظ على كل مرافق المختبر ومعدات المختبرات العامة.

الممارسات المختبرية الجيدة هو المعيار الحقيقي والعملي للمختبر من خلال تصميم الدراسات وتنفيذها ويؤكد لاصحاب المصلحة أن النتائج هي دقيقة وموثوقة والتجربة يمكن استنساخها وفقا لذلك في أي وقت ما في المستقبل. من الناحية التقنية أنGLP هو حجر الزاوية في جميع الانشطة المختبرية في أي منظمة وأن تفتخرعلى جودة العمل الذي ينفذ فيها.

GLPs يمكن أن تطبق على جميع مختبرات الصناعات تقريبا في العمل المختبري الذي يجري بما في ذلك الشركات العاملة في مجال تطوير الأدوية والصناعات التحويلية والأطعمة والمبيدات وإنتاج مياه الشرب والاختبار الهندسي. بالإضافة إلى ذلك، المختبرات

التجارية منها مختبرات علم السموم والتمثيل الغذائي والمواد والسلامة والمؤسسات البحثية والجامعات. في الواقع كل المختبرات العاملة في مجال سلامة المنتج أو الاختبار أو البحوث والتنمية والتطوير يجب اعتماد وتطبيق مذاهب GLP ليس ترفا بل هو ضرورة لأي مختبر مهني يرغب في اكتساب واحترام موظفيه وزبائنه. الأهم من ذلك ان النظر من قبل اية شركة الى منافسيها سيتم خلال تطبيقها والالتزام بأعلى معايير الممارسة المختبرية الجيدة فإنها تكسب كبير المنافسين ميزة وسوف تتنافس بنجاح على رضا رجال الأعمال والاعتراف بها ضمن بيئة العمل.

نظام الجودة

هو النظام الذي تسخدمه المؤسسة لإدارة جودة خدماتها أو منتجاتها .ونظم إدارة الجودة هي نوع واحد فقط من نظام الإدارة التي تشمل نظم الإدارة المالية ونظم إدارة السلامة ونظم الإدارة البيئية..الخ. والتعريف الرسمي للنظام الجودة حسب المنظمة الدولية للقياس (ISO) هو "نظام إدارة يستخدم لتوجيه ومراقبة منظمة فيما يتعلق بالجودة. ولكن هذا يعطي قليلا من الفم وليس واضحا بشكل مقنع (كما هو الحال مع العديد من تعاريفها). ويعتقد أنه النظام الذي يستخدم لمؤسسة ما على التخطيط وإنشاء وتطوير وتصنيع و/ أو تقديم الخدمات أو المنتجات الخاصة بها. اما في مجال الخدمات فهو النظام الذي يستخدم لتقديم تلك الخدمات عند بيع أو توزيع المنتجات الى أشخاص آخرين من بناء و تقديم وإنشاء ثم انه النظام الذي يستخدم للحصول على التخزين والبيع والتسليم. ويتضمن نظام إدارة الجودة حسب مواصفة الايزو ISO 9001 اربعة بنود رئيسة:

1- الإدارة – ويشمل التخطيط والأهداف ومراجعة التقدم .

2- الموارد – الموظفون والأدوات والمعدات وغيرها.

3- الخدمات أو المنتجات – أيا كان يشارك في انشائها أو تسليمها.

4- الرصد والقياس والتحقق – حلقة التغذية المرتدة الهامة للجميع.

ضمان الجودة Quality Assurance

يشير إلى اليقين أن المنتجات والخدمات تلبي متطلبات الجودة، هدف ضمان الجودة هو التحسين المستمر وتعزيز جودة الإنتاج ورضا الزبائن. وأساس يصف ضمان الجودة في عملية تطبيق معايير ضبط الجودة عندما يتم تنفيذها بشكل جيد وتجدر الإشارة إلى التحسن التدريجي من حيث تقليل الأخطاء والسهو وزيادة قابليتها لاستخدام المنتجات والأداء. يجب

ضمان الجودة تكون بمثابة "صوت" للزبائن الذين يتوقعون مستوى معيناً من الجودة التي ستقدم لهم.

وباختصار هي الوقاية من العيوب قبل حدوثها من خلال وصف الخلل او العيب مسبقا. مثال على ذلك:معمل لانتاج الخبز يكون ضمان انتاج الخبز بشكل تام في أول مرة وفي كل مرة اي على طول الوقت. ويجب مقدما ان تكون التكلفة لانجاز المنتج صغيرة مقابل التلف الذي يكون صفراً.

ماهو GLP

هو نظام جودة لعمليات التنظيم في المختبرات وفق الشروط اللازمة للتخطيط والاداء والمراقبة والتسجيل والارشفة والتقرير في نشاط المختبر لتحقيق هدفه في التصديق بأن كل خطوة من خطوات التحليل تكون صالحة ودقيقة.

اهدافGLP

يهدف GLP للتقليل من حدوث الأخطاء من خلال متطلبات كبيرة ومحدد وصفها. ويمكن توفير المعلومات المسجلة وتوضيحها من قبل البند الصحيح مما يدل على تطبيق المتطلبات المذكورة لنظام الاختبار ذات الصلة. تجربة GLP مهمة لأصحاب العمل في بعض الحالات فقد يجد صاحب العمل أنه من المفيد إذا كان لديه الخبرة العملية مع العمل على دراسة وفقا لمبادئ GLP. ان التخطيط الجيد هو نصف للنجاح او اكثر لذلك GLP يضع على درجة عالية من الاعتماد على خلق وتتبع خطة دراسية محددة مسبقا وتلخيص اهدافه كالاتي:

1- تأكد من أن البيانات المقدمة هي انعكاس حقيقي للنتائج التي يتم الحصول عليها أثناء الدراسة

2- يمكن تتبعها.

3- يعززمقبوليتها عالميا

رسالة المختبر الجيد Mission of GLP

رسالة المختبر لضمان الجودة لممارسة المختبرالجيدة (GLP) هي:

1- تحديد ورصد الأنشطة التنظيمية من خلال تطبيق معايير الـ GLP ضمن المتطلبات العالميه.

2- ضمان الوعي والفهم والانتظام في تفسير وتطبيق اللوائح.

3- دفع وتعزيز معايير GLP والامتثال من خلال تبادل المعلومات والتفاعل مع السلطات الرقابية والجهات المعنية الأخرى وتشمل:

- انظمة اختبار Test systems
- ارشفة السجلات والموادArchiving of records and materials
- يحتوي على الاجهزة والمواد والكواشفApparatus, material and reagent
- التسهيلات المرافقة للعملfacilities
- برامج ضمان الجودةQuality assurance programs
- اداء الدراسة المعنيةPerformance of the study
- تدوين نتائج الدراسةReporting of study results
- القيام بعمل اجرائي قياسي لكل النشاطات داخل المختبر Standard operating procedures (SOPs)
- تنظيم يسهل عمل العاملين والاختبار Personnel and test facility organization

تاريخ ممارسة المختبر الجيد

GLPهو التنظيم الرسمي الذي تم إنشاؤه من قبل إدارة الغذاء والدواء (FDA أو USFDA) وهي وكالة اتحادية في الولايات المتحدة مسؤولة عن حماية وتعزيز الصحة العامة من خلال التنظيم والإشراف على سلامة الأغذية ومنتجات التبغ والمكملات الغذائية واللقاحات والمستحضرات الصيدلانية والبيولوجية. وقدم GLP لأول مرة في عام 1972 في نيوزيلندا والدنمارك.

في عام 1978 بدأوا في ارساء لوائح GLP في بلدانهم مثل الولايات المتحدة ردا على فضيحة BIOTEST في المختبرات الصناعية. وفي عام 1981 أنتجت منظمة اسمها OECD(The Organisation for Economic Co-operation and Development) (منظمة التعاون الاقتصادي والتنمية) مبادئ GLP التي اصبحت معياراً دولياً للمختبر الجيد واصدرتها في عام 1992 إلى العديد من البلدان.

منظمة التعاون الاقتصادي والتنمية (OECD) هو منتدى فريد حيث تعمل 34 منظمة اقتصادية كأعضاء مع بعضها البعض وكذلك مع أكثر من 70 منظمة اقتصادية غير الأعضاء لتعزيز النمو الاقتصادي والازدهار والتنمية المستدامة.

مبادئ OECD الى (GLP) هي ضمان توليد بيانات عالية الجودة واختبارات موثوقة تتعلق بسلامة المواد الكيميائية الصناعية والاستعدادات. وقد تم إنشاء المبادئ في سياق مواءمة إجراءات الاختبار للقبول المتبادل من البيانات. وتركز المنظمة على القبول المتبادل للبيانات وأعمال المجلس المتعلقة للبيانات وأتباع غير الأعضاء في منظمة التعاون والتنمية لنظام القبول المشترك من الأهداف وبيانات السلامة الكيميائية ونتائج وفوائد نظام البيانات .

وقد عقدت أول مجموعة للاعمال العلمية حول قضايا GLP في 25 نوفمبرعام 1999 في جنيف لمناقشة قضايا الجودة بشكل عام وضرورة تقديم منظمة الصحة العالمية WHO الوثيقة التوجيهية بشأن GLP على وجه الخصوص. خلص الفريق العامل على أنه من المهم تجنب التعايش بين معيارين GLP ومنظمة التعاون الاقتصادي والتنمية (OECD) كونها معترفاً بها دوليا وذات مقبولية قياسية. وأوصت هذه اللجنة بأن مبادئ OECD يمكن اعتمادها من قبل WHO للبحوث والتدريب في أمراض المناطق المدارية كأساس لهذه الوثيقة التوجيهية. اعترف الخبراء أيضا بالحاجة إلى معالجة قضايا الجودة في مناطق أخرى من دراسات التنظيم الصارم للسلامة . وأوصى الفريق العامل أيضا أن منظمة الصحة العالمية في تقرير التجارة والتنمية أن يطلب الإذن من OECD لنشر النص القائم مع تأييد منظمة الصحة العالمية واستكمال ذلك بمقدمة توضيحية.

إجراءات العمل القياسية Standard Operating Procedures (SOPs)

الجميع يرتكب اخطاء سواء كانت منظورة او غير منظورة ولهذا السبب هناك حاجة الى GLP. ان مبادئ GLP هي فكرة جيدة حتى لو لم يطلب منك اتباع المعايير او تحقيقها. هناك بعض القواعد البسيطة مثل: قل ما تفعلهSay What You Do (مع إجراءات التشغيل القياسية المكتوبة) وافعل ما تقوله(do what you say) بمعنى اتبع الإجراءات التي تكون قادرة على إثبات ذلك مع حسن مسك السجل(with good record keeping). العمليات التي تحتاج إلى أن يؤديها عند تحليل معين في عينات عن طريق إجراء عمليات قياسية (SOP). وSOP يصف كل الخطوات التي اتخذت خلال التحليل بما في ذلك كيف تتم معالجة العينة في المختبر وفصلها من المتداخلات المحتملة وكيفية الطريقة المستخدمة الموحدة وتحويل الإشارة التحليلية الى البيانات ثم إلى النتيجة المرجوة وأدوات تقييم الجودة التي تستخدم للحفاظ على مراقبة الجودة.

إذا كان المختبر هو المسؤول عن أخذ العينات فان SOP سوف تذكر أيضا كيف كانت العينة التي سيتم جمعها والحفاظ عليها وطبيعة أية معالجة قبل عمليات المختبر. يمكن وضع SOP واستخدامها من قبل مختبر واحد أو قد يكون الإجراء الموحد الذي أقرته منظمة مثل الجمعية الأمريكية للاختبار والمواد (ASTM) أو إدارة الغذاء والدواء الاتحادية(FDA). ويرد SOP كنموذج في المثال التالي:

مثال: كيفية استخدام SOP لتحديد الكادميوم في الرواسب البحرية باستخدام جهاز طيف الامتصاص الذري بتطبيق منحنى المعايرة الطبيعي.

الحل: ينبغي جمع عينات الرواسب السفلية وتخزينها في 4 درجات مئوية في اوعية من البولي ايثيلين أثناء النقل إلى مختبر. يجب أن تجفف العينات إلى وزن ثابت في 105 ° C وطحنها إلى حجم موحد من الجسيمات.استخلاص الكادميوم في عينة 1غرام من الرواسب باضافة 25 مل من 0.5 M حامض الهيدروكلوريك إلى وعاء بولي اثلين ذي حجم 100 مل مع التحريك لمدة 24 ساعة.

على الرغم من أن SOP يتيح إجراء مكتوباً فإنه ليس من الضروري أن يتبع الإجراء بالضبط ما دام يتم تحديد أي تعديلات. من ناحية أخرى ان البروتوكول لغرض معين protocol for a specific purpose (PSP) والذي هو الأكثر تفصيلا لتوجيهات مكتوبة لمراقبة الجودة يجب أن يتبع بالضبط إذا كانت نتائج التحليل تكون مقبولة. في كثير من الحالات يتم وضع العناصر المطلوبة لهذ البروتوكول من قبل وكالة راعية للتحليل المعتمد. على سبيل المثال مختبرات تعمل بموجب عقد مع وكالة حماية البيئة لتطوير PSP الذي يعالج هذه البنود من أخذ العينات وحضانتها واجراء المعايرة والجداول الزمنية لأعمال الصيانة الوقائية للمعدات والأجهزة، وإدارة برنامج لضمان الجودة.

يمكن تلخيص عملSOP كالاتي :

1- إجراءات مكتوبة لبرنامج المختبرات
2- كيفية تنفيذ الأنشطة المحددة
3- ترتيب زمني لخطوات العمل
4- شرح كيفية الإجراءات المفترضة للعمل
5- العمل الروتيني لكل من التفتيش والتنظيف والصيانة والفحص والمعايرة
6- الإجراءات المتخذة عند فشل المعدات
7- الطرق التحليلية

8- تعريف البيانات الاولية

9- حفظ السجلات والتقارير والتخزين واسترجاع البيانات

خلاصة العمل القياسية:

حسب الحكمة الذهبية: قل ما تفعله (say what you do)وافعل ماتقوله (Do what you say) وثبت ذلك (to be able prove it)) واخيرا احفظ بسجلات جيدة.

والنقاط الثلاث انفاً تمثل المبادىء الاساسية الى GLP كونه فكرة جيدة حتى لو لم يطلب اتباع اللوائح.

الاجراءات الاحصائية لتقييم البيانات Statistical Procedures for Data Evaluation

تشمل مراقبة الجودة جميع الأنشطة المستخدمة لجلب النظام إلى الضبط الإحصائي فالوجه الأكثر أهمية في مراقبة الجودة هو مجموعة من التوجيهات مكتوبة تصف كل العينات والتقنيات والمختبرات المحددة وتتصف بالأتي:

1- لا يتم اختيار الإجراءات الإحصائية ببساطة من كتاب مدرسي.

2- اعتماد معايير متوافقة مع مجال العمل.

3- تصف الهيئات التنظيمية إجراءات إحصائية مقبولة.

_ضبط الجودة Quality Control (QC)

_هو إجراء أو مجموعة من الإجراءات تهدف إلى ضمان أن المنتجات المصنعة أو الخدمة التي يقوم بها تتمسك بمجموعة محددة من المعايير النوعية أو يلبي متطلبات الزبائن. وهي وسيلة لمنع الأخطاء أو العيوب في المنتجات المصنعة وتجنب المشاكل عند تقديم الحلول والخدمات للزبائن. وحسب الايزو2005 :ISO 9000 تعرفهاهي جزء من إدارة الجودة تقوم على توفير الثقة بأن متطلبات الجودة سوف تتحقق. وتشمل أنشطة الجودة الطرق العامة مثل مراقبة الدقة للحصول على البيانات والحسابات واستخدام إجراءات موحدة معتمدة لحساب النتائج وتقدير أوجه عدم اليقين وحفظ المعلومات والتقارير.

بمعنى اخر هو الكشف عن العيوب بعد وقوع الحدث

التحقق من صحة النتائج من خلال البيانات التالية:

1- صلاحية الطريقة validation of method

اذا اردت أن توفر معلومات تحليلية مفيدة فمن الضروري إثبات أنها قادرة على توفير نتائج جيدة. ان التحقق من صحتها هو تقييم للدقة (accuracy) وتوافق النتائج

(precision) التي تم الحصول عليها عن طريق اتباع الإجراءات المناسبة لهذا التحليل. وبالإضافة إلى ذلك ان المصادقة على هذه التحاليل يضمن عن طريق الإجراء المكتوب الاحتواء على تفاصيل كافية لمختلف المحللين أو المختبرات للحصول على نتائج مماثلة . من الناحية المثالية يستخدم التحقق من صحة العينة القياسية التي تطابق بشكل وثيق مع العينات التي تم تطوير إجراءاتها . تكون المقارنة بين التحليلات عن طريق تكرارها لاستخدامها لتقييم اجراءات الدقة وتوافق النتائج داخل المختبر او بين المختبرات. في غياب المعايير المناسبة يمكن تقييم الدقة من خلال مقارنة النتائج الحاصل عليها مع الطريقة الجديدة التي تم اتباعها باستخدام طريقة ذات دقة معروفة. ويمكن التعرف على اهم البيانات التي تنتهجها في تحقيق صلاحية اية طريقة تحليلية من البيانات ومصادرها المبينة في الجدول التالي:

المقياس	المصدر
Selectivity	Iso 17025
Precision	Usp.ICH
Reproducibility	ICH, USP ISO 17025
Accuracy	USP, ICH, ISO 17025
Linearity	ICH, ISO 17025 USP
Range	USP, ICH
limit of detection	USP, ICH, ISO 17025
limit of Quantitation	USP, ICH, ISO 17025
Robustness	USP, ICH, ISO
Ruggedness	USP, ICH
Reproducibility	ICHHG

USP : اتفاقية دساتير الأدوية الأمريكية (USP) هي منظمة علمية غير ربحية تضع معايير للهوية والقوة والجودة والنقاء من الأدوية والمكونات الغذائية والمكملات الغذائية المصنعة وتوزيعها واستهلاكها في جميع أنحاء العالم. ان معايير المخدرات USP هي قابلة للتنفيذ في الولايات المتحدة من قبل إدارة الغذاء والدواء وتستخدم هذه المعايير في أكثر من 140 دولة.

ISO 17025: مواصفة اختبار/ ومعايرة للمختبرات تم توضيحها في كتابنا (اتجاهات معاصرة في نظام جودة واعتماد المختبرات).

تعريف المؤتمر الدولي للتوحيد (International Conference on ICH) Harmonization)

المؤتمر الدولي المعني بالتنسيق وتقديم الوثائق والتوصيات بشأن المعلومات التي ينبغي إدراجها في تقرير الدراسة السريرية الأساسية . وهذا المبدأ التوجيهي لمساعدة الراعين في وضع تقرير لابد ان يكون مكتمل وخالي من الغموض ومنظما تنظيما جيدا وسهل لإعادة النظر عليه في اي وقت.

وهو يعني بمدى الإجراء التحليلي باعتباره الفاصل الزمني من اعلى تركيز الى اقل تركيز (كميات) من تحليل مادة ما في العينة (ضمن هذه التركيزات) الذي اثبت أن عملية التحليل لديها بمستوى مناسب من الدقة وتوافق النتائج والخطية. يتم التعبير عن مجموعة النتائج عادة في نفس وحدات نتائج الاختبار (على سبيل المثال، جزء في المليون) التي حصلت عليها الطريقة التحليلية.

2- التكرارية Repeatability . يعبر عن الدقة تحت التشغيل لنفس الظروف على مدى فترة قصيرة من الزمن. ويطلق أيضا عليها تكرار الدقة داخل الفحص.

3- الاستنساخية Reproducibility. يعبر عن الدقة بين مختبرات (عادة الدراسات البحثية يتم تطبيقها للتوحيد القياسي المنهجي.)

4- الانتقائية_Selectivity

في الطرق التحليلية الانتقائية تشير فقط الى كمية المادة الموجودة في العينة دون المتداخلات. وقد تطور استخدام الانتقائية لمدى بالتوازي مع تطوير أساليب أكثر حساسية وتمييزية يمكن أن تكون قادرة على تحديد مادة التحليل مع تدخل أقل من المكونات الأخرى من الأساليب السابقة . الأساليب الحديثة في كثير من الأحيان تضم العديد من الاستراتيجيات التي تعرض الانتقائية الخاصة لتقليل التداخلات.

5- الخطية linearity

الخطية تعني أن مقدار التغير أو معدل التغير على عشرات من النتائج بين اثنين من المتغيرات المستمرة لمجموعة كاملة من درجات المتغيرات ويمكن الاستفادة منها في المجالات الاتية:

- للتحقق من نتائج يمكن قياسها بدقة في الخطأ المنهجي المسموح والمحدد من قبل المختبر.
- على وجه الخصوص للتحقق من الدقة بالقرب من الحدود العليا والدنيا للنتائج المعتمدة (مجموعة من القيم يقدر الجهاز او الطريقة على قياسها دون اخطاء).
- للتحقق من أن زيادة القيمة المقاسة خطيا مع القيمة الحقيقية.

6- صحة الطريقة Accuracy

الدقة هي مقياس لمدى الارتباط الوثيق نتيجة تجربة تتفق مع النتيجة المتوقعة والفرق بين النتيجة التي حصل عليها والنتيجة المتوقعة والإبلاغ عن خطأ نسبي في المئة وبعبارة اخرى تشير الدقة لقرب القيمة المقاسة إلى القيمة المعيارية أو المعروفة. على سبيل المثال إذا كان في مختبر عليك الحصول على قياس وزن 3.2 كغم لمادة معينة ولكن الوزن الفعلي أو المعروف هو 10 كغم فان القياس الخاص بك ليس دقيقاً وفي هذه الحالة القياس الخاص بك ليس قريباً إلى القيمة المعروفة.

7- دقة النتائج precision

عندما يتم تحليل عينة عدة مرات والنتائج الفردية نادرا ما تكون هي نفسها فبدلا من ذلك تنتشر نتائج عشوائيا. دقة توافق النتائج هي مقياس هذا التباين. اي كلما اقترب الاتفاق بين النتائج الفردية كان أكثر دقة لتوافق النتائج. وتشير توافق النتائج لقرب اثنين أو أكثر من القياسات لبعضها البعض. باستخدام المثال السابق إذا كنت تزن مادة معينة خمس مرات والحصول على 3.2 كغم في كل مرة اي ان القياس الخاص بك هو دقيق جدا.مع ملاحظة ان الدقة مستقلة عن دقة توافق النتائج.

8- الحساسية sensitivity

القدرة على إثبات أن عينتين لهما كميات مختلفة من المادة هو جزء أساسي من العديد من التحليلات. حساسية الطريقة هي مقياس لقدرتها على إثبات أن مثل هذه الاختلافات كبيرة

9- المدى range

احد قياسات التوافق ويعطي فكرة عن مقدار انتشار النتائج وهو الفرق بين اعلى قيمة واقل قيمة في مجموعة من القياسات ويكون هذا المدى مفيدا فقط عند التعامل مع عدد قليل من القياسات.

10- حدود الكشف limit of detection

حد الكشف هو أصغر كمية من المادة المحللة التي يمكن تحديدها مع الثقة.وبالتالي ان حدود الكشف هو معيار احصائي.

11- حدود الكميات limit of quantitation

ICH يعرف حدود الكميات (LOQ) من إجراء التحليل الفردي من أدنى كمية تحليلية في العينة التي يمكن تحديدها كميا مع دقة وتوافق نتائج مناسبتين.

12- المرونة والمطاوعةruggedness/robustness

اي طريقة لتكون مفيدة يجب أن توفر نتائج موثوقة. ولكن للأسف ان الطرق التحليلية تخضع لمجموعة متنوعة من التداخلات الكيميائية والفيزيائية التي تساهم في الشك بعملية التحليل. عندما تكون الطريقة خالية نسبيا من التداخلات الكيميائية ويمكن تطبيقه على التحاليل في طائفة واسعة من مواد العينة تعتبر مثل هذه الطرق ذات مرونة قوية. ان وجود تغيرات عشوائية في ظروف تجريبية أيضا تدخل الشك فاذا حساسية الطريقة تعتمد إلى حد كبير على الظروف التجريبية مثل درجة الحرارة والحامضية أو وقت رد الفعل. هذه التغييرات الطفيفة في هذه الظروف يمكن أن يؤدي إلى نتائج مختلفة إلى حد كبير. وهناك يمكن ان نعتبر هذه الطريقة ليست مطاوعة اي غير حساسة نسبيا إلى تغييرات الظروف التجريبية.

ملاحظة:المواد المرجعية القياسية standared refrence materials(SRMs) أفضل اجراء لتحديد الدقة. شهادة المواد المرجعية (CRMs) هي "ضوابط" أو المعايير المستخدمة للتحقق من الجودة والمترولوجية لتتبع المنتج والتحقق من صحة طرق القياس التحليلية أو معايرة الأدوات. والمواد المرجعية المعتمدة هي شكل معين من المعيار قياسي. إن المواد المرجعية ذات أهمية خاصة للكيمياء التحليلية والتحليل السريري. أن معظم الأجهزة التحليلية يتطلب عينة من تكوين معروف (المواد المرجعية) للمعايرة الدقيقة.

التحقق من صحة عمل الاجهزة

هو اجراء قد يكون يومياً ويتمثل كالاتي:

- هذا هو عملية ضرورية لأي مختبر تحليلي.
- البيانات التي تنتجها الاجهزة "خطأ" قد تعطي مظهر بيانات صالحة.
- تكرار المعايرة اوإعادة التحقق من صحة الطريقة اوالاختبار المعتمدة على الجهاز ومدى استخدامه في المختبر.
- كلما كان أداء ادارة المختبر هو خارج "حدود السيطرة" يجب وقف العمل والتقارير.

سجلات المعدات

يجب أن تشمل الاتي:

- اسم المعدات والشركة المصنعة.
- النموذج أو نوع التحديد.
- الرقم المسلسل Serial number .
- استقبال أحدث المعدات في المختبر.
- نسخة من تعليمات التشغيل الشركة المصنعة.

سجلات الاجهزة

يجب ان يحتفظ لكل جهاز بسجل كامل يبين:

- توصيف الجهاز.
- اجراءات المعايرة .
- اجراءت الصيانة التي تمت.
- طريقة التشغيل
- حالة الجهاز ويشمل على المعلومات الاتية:
- اسم الجهاز
- اسم المورد وعنوانه
- الشركة المنتجة
- رقم المسلسل
- حالة الجهاز :جديد –قديم – مجدد
- تاريخ شراء الجهاز
- تاريخ بدء تشغيل الجهاز
- قطع الغيار او الاجزاء الملحقة به
- مكان وضع الجهاز
- نوع وتوقيت الصيانة التي تمت
- تاريخ المعايرة

اسئلة هامة يتعين الإجابة عنها لاي أداة تحليلية:-

- ما المعدات التي تستخدم لتحليل ما؟
- هل الأداة ضمن المواصفات وهل الوثائق لإثبات هذه متاحة؟

- اذا كانت ألاداة ليست ضمن المواصفات كم يكون حيودها؟
- إذا كانت ألاداة ليست ضمن المواصفات ما الإجراءات التي تتخذها للتغلب على الخلل؟
- هل يمكن تتبع المقاييس المستخدمة لاختبار ومعايرة الجهاز إلى معايير محلية.

شهادة الكاشف والمواد Reagent/ Materials Certification

تجري ضمن الاجراءات الاتية:

- التأكد من أن الكواشف المستخدمة محددة في إجراءات التشغيل القياسية
- ينبغي التعامل مع عمليتي الشراء والاختبار باستخدام برنامج ضمان الجودة

الكواشف والمحاليل في المختبر Reagents and Solutions

يجب ان تكون:

- معلمة
- الكواشف والمحاليل التالفة اوالقديمة تجنب استخدامهما
- تشمل تاريخ فتحها.
- خزنها تحت درجة المحيط
- تاريخ إنتهاء الصلاحية
- اسمها العلمي واسمها التجاري

شهادة المحلل Analyst Certification

الاعتراف بالمحلل والاشاده به من خلال الاتي:

- يجب وضع بعض الأدلة المقبولة والمرضية للتدريب و / أو كفاءة إجراءات مختبر محددة لكل محلل.
- الكفاءة او الاهلية قد تاتي من الخبرة والثقافة او من التدريب الاضافي والذي يجب ان يوثق.
- متطلبات تنوع الشهادة.

شهادة المختبر Laboratory Certification

يتمتع المختبر بالحصول على شهادة من خلال الاتي:

1- هيئة خارجية تقوم بعد بتدقيق الاجراءات المتبعة من قبل المختبر.

2- اجراء التقييم ويركز على بعض الامور مثل:

- مساحة كافيةAdequate space

- التهويةVentilation
- الخزنStorage
- النظافةHygiene
- الاضاءة المناسبة

التوثيق وصيانة السجلات Documentation and Maintenance of Records

من اهم الملاحظات حول التوثيف والسجلات:

1- يكون التوثيق جزءاً اساسياً للاسباب الاتية:

- جزء أساسي من نظام ضمان الجودة ويجب أن يكون موجود لجميع جوانب اجراءات ادارة الجودة GMP
- اجراء ممارسة جيدة للوثائق وهي الممارسة المتوقعة.
- يجب ان تكون صحيحة وكاملة وحديثة ومعلومات متناسقة تواجه بفعالية متطلبات الزبائن وأصحاب المصلحة.
- يساعد على الحد من الملاحظات غير الكافية التي أثيرت على ممارسات التوثيق.

2- صيانة جميع السجلات التي توفر الوثائق المطلوبة قانونيا لتجنب التداعيات التي قد تحصل لنتائج التحليل الاصلية.

3- المبادئ التوجيهية العامة المتبعة في المختبرات الخاضعة للتنظيم هي للحفاظ على السجلات لمدة خمس سنوات على الأقل

4 اختلاف المدة الزمنية التي يجب الاحتفاظ بسجلات المختبر طبقا لاختلاف وضعها او موقعها والغرض من السجل.

تتبع العينة Specimen/Sample Tracking

هو اجراء يتخذ لرصد ومراقبة العينه او النموذج الخاضع للتحليل ويتصف بالاتي:

1- يقدم نظام مختبر تتبع عينة لغرضين رئيسيين هما:

- تسلم وثيقة من العينات في المختبر بما في ذلك المعلومات ذات الصلة للعودة اوالتخلص من العينات.
- التخلص من وثيقة من وثائق الحصول على العينات اي يحتوي نظام البيانات على العينات الواردة والتخلص منها في مختبر ما قد يغطي بيانات عام 1993 إلى الآن على سبيل المثال.

2- تختلف تتبع العينة من مختبر الى اخر .

3- يجب الحفاظ على الاتصال الموثوق بين مجموعة من البيانات التحليلية والعينة التي تم الحصول عليها.

4- يجب أن يسجل المصدر الأصلي للعينة والمتصلة بشكل لا لبس فيه مع مجموعة من البيانات التحليلية المقدمة.

العناصر الاساسية لممارسة المختبر الجيد :

1- تاهيل ادارة مرافق الاختبار والاشخاص. Qualification of test facility management and personnel.

مرفق الاختبار test facility (TF) إدارة تعني الشخص (الأشخاص) الذي يكون في السلطة والمسؤولية الرسمية لتنظيم سير عمل TF وفقا للوائح GLP. وهذا يتطلب تحديد إدارة وحاجة العمل ووصف خلفية التأهيل وسجلات التدريب (السير الذاتية). وعلى المنظمة أن تصف في وثيقة مخصصة طريقة هيكلة TF. يجب على إدارة TF ضمان توفر جدول زمني رئيس ومناسب. وتكون المرافق والمعدات والمواد اللازمة لسير العمل على وفق وقت مناسب وصحيح للدراسة.

2- اجراءت العمل القياسية Standard operating procedures.

إجراءات العمل القياسية توفر أدوات العمل القياسية التي يمكن استخدامها لتوثيق نظام إدارة الجودة الروتينية والأنشطة الفنية. إنّ تطوير واستخدام إجراءات العمل القياسية جزء لا يتجزأ من نظام جودة ناجحة اي أنه يوفرللافراد المعلومات لأداء وظيفة أو إكمال المشروع بشكل صحيح ويسهل التنسيق في جودة وسلامة المنتج أو النتيجة النهائية. مصطلح "SOP" قد لا تكون دائما ملائمة حالها حال مصطلحات اخرى مثل البروتوكولات والتعليمات وأوراق العمل. إنّ إجراءات العمل القياسية تفصيليا هي إجراءات العمل المتكررة بانتظام أن يتم إجراؤها أو اتباعها داخل المؤسسة. أنها توثيق أنشطة الطريقة التي يتعين القيام بها لتسهيل التوافق مع المتطلبات التقنية ونظام الجودة ودعم جودة البيانات. يصفون المختصون على سبيل المثال الإجراءات الأساسية البرنامجية والإجراءات الفنية بأنها العمليات التحليلية وعمليات الصيانة والمعايرة واستخدام المعدات. وتهدف إجراءات العمل القياسية أن تكون محددة للمنظمة أو المنشأة التي تم وصفها ومساعدتها إلى الحفاظ على السيطرة وضمان الجودة في عمليات الجودة وضمان الامتثال للوائح الحكومية للأنشطة.

3- برنامج ضمان الجودة Quality assurance program(QA)

المنتجات الأولية من أي مختبر تركز على التحليل النوعي والكمي من خلال البيانات التحليلية المذكورة لعينات فحص من قبل المختبر. QA لمثل هذا المختبر يشمل جميع الأنشطة المرتبطة بضمان أن القياسات الكيميائية والفيزيائية على سبيل المثال تتم بشكل صحيح وتفسر بشكل دقيق وتكون مفيدة للتقديرات المناسبة لمستويات الخطأ والثقة. وتشمل الأنشطة لضمان الجودة أيضا الاحتفاظ بسجلات مناسبة للعينة وأصلها وتاريخها (تتبع عينة) وكذلك الإجراءات الخام للبيانات والنتائج المرتبطة بكل العينة.

يمكن ان تكون مجلدات كثيرة مكتوبة بشأن كل عنصر من عناصر ضمان الجودة وبشكل تفصيلي ومع ذلك يتم تقديم مناقشة موجزة هنا. ان إجراءات العمل القياسية هي اسم يعني الإجراءات التي تم اختبارها واعتمادها لإجراء تقرير خاص. في كثير من الأحيان سيكون تقييم هذه الإجراءات ونشرها في وكالة تنظيمية معنية (على سبيل المثال وكالة حماية البيئة أو ادارة الادوية والغذاء Food and Drug Administration (FDA) هذه الوكالات قد لا تقبل البيانات التحليلية التي تم الحصول عليها من إجراءات أخرى لتحليل معين. ففي سياق العمل المختبري يجب توفير اجراءات تجريبية في دليل المختبرات تتوافق مع إجراءات العمل القياسية. وفي أي مختبر ان إجراءات العمل القياسية يجب أن تكون إما متاحة أو تطويرها لمعايير مقبولة اذا جمعت أية بيانات تحليلية يمكن ربطها وفقا لإجراءات موثقة. وهذا يعني أن قرار معين يمكن أن يتكرر في أي وقت لاحق لعينة مماثلة يمكن تطبيقه وذلك باستخدام SOP المحدد.

العناصر المهمة لضمان الجودة في المختبر الجيد:

1- إجراءات التشغيل القياسية. SOPs

2- التحقق من صحة القياس instrumentation validation

3- شهادة الكاشف / المواد reagent/materials certification

4- شهادة تأهيل المحلل analyst qualification/certification؛

5- شهادة وتأهيل مرافق المختبر lab facilities qualification/certification

6- تتبع العينة اوالنموذج specimen/sample tracking

تاهيل المرافقات او الخدمات Qualification of facilities

تتم هذه عادة من قبل بعض الجهات الخارجية فعلى سبيل المثال قد يقوم بمراجعة المختبرات التحليلية والمختبرات الحيوية ممثلون عن الوكالة الفدرالية التي لديهم عقد معها .فالمختبر المستقل لديه ملف من الوثائق مع دولة مسؤولة أو وكالة اتحادية. ويشمل التقييم مجالات

مثل فضاء المختبر (العدد والجودة والصلة بين مجالات المختبر) والتهوية والمعدات والتخزين والنظافة. على سبيل المثال يتم تقييم مختبرات الكيمياء بشكل عام من قبل الجمعية الكيميائية الأمريكية كجزء من عملية منح الموافقة على برنامج الكيمياء الشامل الذي تقدمه الكلية أو الجامعة. في هذه العملية ان موافقة الأخير ليس كما هو مفصل فيما يتعلق بالمرافق التحليلية الاخرى مثل عمليات إصدار الشهادات من قبل وكالات تابعة لها معنية على وجه التحديد مع ضمان الجودة.

تاهيل وصلاحية الاجهزة والمواد والكواشف- Qualification and validation of apparatus (equipment, computers, or computerized systems), materials, and reagents.

وهي عملية ضرورية بطبيعتها للمختبرات التحليلية والمختبرات الحيوية. ان البيانات التي تنتجها الطرق التحليلية هي "خطأ" قد تعطي مظهراً صحيحاً. هذه الحالات هي صعبة للغاية للكشف عنها مع أنظمة الكمبيوتر الحديثة التي تحيد المحلل من وظائف التحكم في جمع البيانات والطريقة. وبالتالي فمن الضروري أن يتم تنفيذ بعض إلاجراءات الموضوعية لتقييم مستمر من صحة البيانات المفيدة. هذه الإجراءات عندما تتم على أساس منتظم ستنشئ عملية مقبولة لاستمرار الأدوات المختبرية ضمن المواصفات المقررة.

شهادة الكواشف والمواد Reagent/Materials Certification

وهو عنصر واضح لضمان الجودة. ومع ذلك تؤكد المبادئ التوجيهية لممارسة المختبر الجيد أن التصديق على صلاحية الكواشف والمواد يجب أن تتبع الإجراءات المقبولة وينبغي أن تكون موثقة بشكل كاف. وعلاوة على ذلك فان بعض المبادئ التوجيهية التي تحدد كل حاوية لمواد المختبر او الكواشف يجب أن تكون مسماة مع المعلومات المتعلقة بها التي تتضمن الشهادة والتاريخ ووقت انتهائها. وتهدف هذه السياسة إلى ضمان أن الكواشف المستخدمة هي على النحو المحدد في إجراءات العمل القياسية.

تاهيل وشهادة المحللين وجودة الاشخاص (Qualification/Certification of Analysts Quality Personnel)

هوالجزء المطلوب من ضمان الجودة. ويجب وضع بعض الأدلة المرضية والمقبولة للتدريب و / أو الكفاءة مع إجراءات مختبر معينة لكل محلل. وإن الجمعية الكيميائية الأمريكية على سبيل المثال ليس لديها حاليا سياسة تتعلق "بالشهادة" من الكيميائيين أو المحللين. ومتطلبات "الشهادة" تختلف وعادة ما يتم وصفها من قبل المختبر. ومن شأن هذه المعايير

للشهادة أن تكون مقبولة من قبل أي وكالة أو زبون للحصول على النتائج من تلك المختبرات. لروتين عمل المختبر شرط الحصول على شهادة كمحلل هو استكمال تعيينات مرضية محددة مسبقا (تحدده إجراءات العمل القياسية ذات الصلة). وإن تنفيذ هذه الاجراءات الأساسية سوف تتكرر إذا لزم الأمر حتى يتم الحصول على نتائج مرضية (التقييم بناءا على دقة التحليل والموثوقية).

تتبع العينة او النموذج Specimen/Sample Tracking

هو جانب من جوانب ضمان الجودة التي تلقت قدرا كبيرا من الاهتمام مع ظهور مختبر نظم إدارة المعلومات القائم على الحاسوب. ومع ذلك سواء كان ذلك باليد (الملفات الورقية) أو مع تقنيات الترميزالحديثة(عن طريق الكمبيوتر) يبقى تتبع عينة جزءاً حاسماً لضمان الجودة . و"العينة" عادة ما يشير إلى عنصر يتسم كيميائيا ويشير إلى جزء محدود من النموذج الذي تؤخذ للتحليل. عندما يكون النموذج متجانساً تمثل العينة التشكيل العام للنموذج. ومع ذلك إذا كانت العينات غير متجانسة (على سبيل المثال السبائك المعدنية والصخور والتربة والمنسوجات والمواد الغذائية ومركبات البوليمر وكبسولات فيتامين وما إلى ذلك) فالعينات قد لا تمثل التراكيب الشاملة للنموذج. يمكن الحفاظ على التمييز في سجلات النتائج التحليلية يكون حاسما في تفسير البيانات. وإن اجراءات الضمان الكافية لتتبع العينة او النموذج تختلف بين مختبر وآخر. وخلاصة القول هو أن هذه الإجراءات يجب أن تحافظ على اتصال اللاخطأ بين مجموعة من البيانات التحليلية والعينة و / أو عينات من التي تم الحصول عليها. بالإضافة إلى ذلك المصدر الأصلي في تسجيل العينة / النموذج وتوصيلها لمجموعة من البيانات التحليلية. وأخيرا في كثير من الحالات "سلسلة من بين العينات المحتجزة" يجب تحديدها والتحقق من صحتها. وهذا ينطبق بصفة خاصة على عينات الطب الشرعي (المتعلقة بمجرمي النيابة العامة) ولكن يمكن أيضا أن تكون ضرورية لكثير من الحالات الأخرى كذلك. على سبيل المثال شركة أدوية لتطوير منتج جديد يمكن أن تحتاج في بعض الوقت الى دفاع عن تفسيراتها لاختبارات التجارب السريرية قد يتطلب هذا من دفاع الشركة لإثبات أن العينات التي تم جمعها خلال هذه التجارب لا يمكن أن يكون تم التلاعب عمدا بها. وهذا يعني أنها قد تضطر إلى إنشاء سلسلة من التوصيات من دون انقطاع من شأنه أن يزيل كل شك بشأن سلامة العينات المقدمة التحليل.

توثيق وصيانة السجلاتDocumentation and maintenance of records

إحدى السمات الرئيسة للمبادئ التوجيهية للمختبر الجيد(GLP) هي التوثيق جنبا إلى جنب مع الحفاظ على سجلات العينة او أصول العينة من خلال سلسلة من المسؤوليات والبيانات التحليلية الخام والبيانات والمعالجة التحليلية وإجراءات العمل القياسية ونتائج التحقق من صحة الطريقة ونتائج شهادة الكواشف ووثائق التصديق للمحلل.. الخ.

وإن الاحتفاظ بسجلات االطريقة وشهادة الكواشف توفر الاجابة على تقييم النتائج حتى بعد مرور عدة سنوات. وان صيانة جميع السجلات المحددة توفر الوثائق والتي قد تكون مطلوبة في حال التحديات القانونية بسبب تداعيات القرارات استنادا إلى النتائج التحليلية الأصلية.

وإن ميزة حفظ السجلات في GLP مهمه جداً . وأن العديد من الموردين حاليا يقومون على توفير العديد من هذه القدرات كجزء من برامج الحاسوب لتشغيل الآلات الحديثة. على سبيل المثال فان العديد من الأدوات التي تعتمد على الكمبيوتر الحديثة تقوم باجراء عملية التخزين الى أجل غير مسمى من البيانات التحليلية الأولية لعينات معينة محمية بيئيا (من التزوير) . وأنها توفر أيضا صيانة تاريخية لسجلات ضبط الرسم البياني لبيانات إنشاء نوعية تشغيلية للطرق وفي أي فترة تم الحصول على البيانات التحليلية من تلك الطرق.

وطول المدة الزمنية التي ينبغي الحفاظ فيها على سجلات المختبر ستختلف مع الوضع. ومع ذلك اتبعت مبادئ توجيهية عامة في المختبرات الخاضعة للتنظيم هي الاحتفاظ بسجلات لمدة 5 سنوات على الأقل. وفي الواقع هذه السجلات يجري الحفاظ عليها أطول بكثير. إن تطويراجهزة لكثافة تخزين اعلى عن طريق البيانات الرقمية يجعل هذا النوع من حفظ السجلات ممكناً. وتزايد تردد المقاضاة بشأن المنتجات التجارية ذات الصلة جعل هذا النوع من حفظ السجلات ضرورياً. وعلاوة على ذلك إنشاء وحدة خاصة لها لان البيانات المخزنة صارت قضية أمنية رفيعة المستوى للشركات المعنية حول المقاضاة في المستقبل.

عوامل مهمة في تدقيق المختبر GLP

المدقق الى GLP ينبغي أن يكون من الممكن النظر إلى الوثائق والعثور بسهولة على ما يلي:

- الجهة(الموظف) التي أجرت الدراسة.
- كيف تم تنفيذ او اجراء التجربة .
- ماهي الإجراءات التي تم استخدامها.
- إذا كان هناك أي مشكلة كيف تم التصدي لها وحلها عند اقتضاء الحاجة.

- برنامج تأكيد الجودة
- الخدمات والمبنى
- اعضاء الفحص Test Systems
- الاجهزة والادوات وانظمة الكمبيوتر
- المواد الكواشف والمواد الخاضعة للفحص Materials, Reagents, Test Items
- إجراء دراسة طرق العمل القياسيه Standard Conduct of the Study Operating Procedures
- تدوين نتائج الدراسة Reporting of the study Results
- تخزين السجلات والمواد Storage of Record and Report

تقرير التدقيق الداخلي

تقرير التدقيق هو وثيقة رسمية داخلية حيث يلخص التدقيق الداخلي عملها على المراجعة وتقارير استنتاجاتها وتوصياتها بناء على انجاز العمل.

ويقوم بتقييم مدى كفاية الضوابط والعمليات لتحقيق الأهداف المرجوة الرئيسية. فيما يلي أهداف العمل وتقييم الرقابة ذات الصلة (مرضٍ– يحتاج إلى تحسين– غير مرضٍ) وملخص لأهم الضوابط الجيدة والضعيفة التي لوحظت في المراجعة. والشكل (24–1) يوضح نموذج بسيط لتقرير التدقيق الداخلي.

تقرير التدقيق الداخلي

النشاط المدقق	تاريخ التدقيق
اصحاب العملية	
معايير التدقيق	
المدقق او المدققين	
مجال التدقيق	
عدد التدقيق	
الملاحظات	
النتائج- النظر الى طلبات الاجراءات التصحيحية	

الشكل(25-1) نموذج تقرير التدقيق الداخلي

نقاط الفوة والضعف في GLP

نقاط القوة

1- يصر على التدقيق.

2- يصر على توثيق الاجراءات.

3- يخضع لنفس القياسات العالمية واسعة الانتشار.

نقاط الضعف

1- لايعير اهتماما للمحتوى العلمي.

2- لايعطي مزيدا في خطوات من الخطوات في تحقيق الاختبار.

3- يميل الى الافراط في التفاصيل التفنية.

4- يعطي اهتمام اكثر للاختبارات الكيمياوية.

اسئلة الفصل الخامس والعشرون

1- ما هي الممارسة المختبرية الجيدة؟

2- ما هي العناصر المهمة للممارسة المختبرية الجيدة؟

3- ما هيSOP ؟

4- ما هي خصائص وحدة ضمان الجودة؟

5- ما هي جوانب عملية التحقق من صلاحية الطريقة؟

6- قارن بين الإجراءات والطريقة .

7- وضح العلاقة بين SOP ووحدة ضمان الجودة QAU

8 - ما الفرق بين الدقة وتوافق النتائج؟

9- ما الفرق بين ضمان الجودة ومراقبة الجودة .

10- ما هو اعتماد المختبر؟

11- ما هي إجراءات السلامة في المختبر؟

12- لماذا يهتم المختبر أكثر بالطرق التقنية؟

13- لماذا يهتم GLP فقط بـSOPs ؟

فـهـرست الـكـتـاب

الموضوع	رقم الصفحة
مقدمة الكتاب	5
الفصل الاول: المقدمة – التحليل الآلي	9
وظيفة الكيمياء التحليلية	9
منهجية التحليل	10
التوجهات المستقبلية للطرائق والإجراءات التحليلية	13
بعض الخواص الفيزيائية المعتمدة في التحاليل الآلية	16
سياقات التحليل الآلي	17
تصنيف طرائق التحليل	17
التحليل الالي وطرق الفصل	18
اولا– طرائق التحليل الكهروكيميائية	18
ثانيا– الطرق الطيفية	22
ثالثا– طرائق الفصل في التحليل	23
التحليل الكروماتوكرافي	23
طرائق اخرى مختلفة	24
أسئلة الفصل الاول	24
الفصل الثاني: طرائق التحليل الكهروكيميائية	25
الكيمياء الكهربائية	25
اكتشاف الكيمياء الكهربائية	26
الاكسدة والاختزال	27
الاقطاب Electrode	29
المصطلحات	38
الاستقطاب polarization	38
فوق الفولتية over voltage	38
تفاعل الاقطاب	39
أسئلة الفصل الثاني	40
الفصل الثالث: الطرائق المجهادية Potentiometric Methods	41

قياس فرق الجهد	41
خلية التركيز the concentration cell	43
قياس الايون الهيدروجين (الدالة الحامضية pH)	44
انواع الاقطاب	45
التسحيحات المجهادية potentiometric titration	51
جهاز قياس فرق الجهد المبسط	51
أسئلة الفصل الثالث	55
الفصل الرابع: الفولتامتري والبولاراكرافي voltammetry and polarography	57
مقدمة	57
اسس التحليل البولاراكرافي	61
تيار التنافذ والانتشار المحدد Limiting Diffusion Current	62
قطب الزئبق المتقاطر (DME)	63
(معادلة الكوفك) ilkovic equation	64
شكل الموجية البولاراكرافية	65
جهاز الفولتامتري مع جهاز الاوتاماتيكي للعينات مع القطب الثلاثي	74
التسحيحات الامبيرومترية Amperometric titration	75
– منحني التسحيح الاول	77
– منحني التسحيح الثاني	77
– منحني التسحيح الثالث	78
أسئلة الفصل الرابع	80
الفصل الخامس: الكولومتري والترسيب الكهربائي	81
الكولومتري Coloumetry	81
الكولومتري الغازي أو المائي	85
التسحيح الكولومتري	86
التحلل الكهربائي Electrolysis	88
جهد التفكك (decomposition potential)	91
الفصل بالتحليل الكهربائي	92
التحليل تحت جهد الكاثود المسيطر	93

أسئلة الفصل الخامس	96
الفصل السادس: قياسات التوصيل الكهربائي Conductometry	97
قياسات التوصيل الكهربائي	97
قانون اوم والوحدات	97
التسحيحات التوصيلية Conductometric titration	102
تطبيقات التوصيلات الالكتروليتية.	105
أسئلة الفصل السادس	106
الفصل السابع: مبادئ الطرائق الطيفية	107
مقدمة لطرق التحليل الضوئي	107
اكتشاف الموجات الكهرومغناطيسية	109
الطيف الكهرومغناطيسي electromagnetic spectrum	110
الإثاره الإلكترونية	113
الأطياف الإلكترونية Electronic Spectra	113
أنواع الالكترونات والانتقالات	114
التداخل	116
الأجهزة Instrumentation	117
جهاز التحليل الطيفي في مجال الأشعة المرئية وفوق البنفسجية	117
مطيافية فوق البنفسجية والمرئية	117
مكونات جهاز UV- Visible الأساسية	118
مصادر الاشعاع	119
اختيار الاطوال الموجية Wave length choice	121
المرشحات الزجاجية Glass filter	122
المحززات Gratings	124
منحنيات التشتت للاطياف	127
أسئلة الفصل السابع	129
الفصل الثامن: مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية	131
الامتصاص بالأشعة ما فوق البنفسجية والمرئية	131
النظرية الرياضية للامتصاص الطيفي Lambert – Beer's Law	131
شروط قانون بير	135

الانحراف عن قانون بير	137
دقة القياسات الضوئية والطيفية	139
الشكل الاسي لقانون بير	140
الأجهزة المستخدمة في القياسات الطيفية	142
مصادر الاطياف الضوئية source of radiation	143
موحدات أطوال الموجات Monochromators	144
خلايا العينات Sample containers	145
المكشاف Detectors	146
وحدة التسجيل Recorder (meter)	148
تعريفات هامة خاصة بطيف الأشعة المرئية والفوق بنفسجية	149
تطبيقات الامتصاص الطيفي	149
التطبيقات الكيميائية للاطياف	152
حساب PKind لدليل phenol Red	154
اضافية أو جمع الامتصاصات	157
أسئلة الفصل الثامن	158
الفصل التاسع: مطيافية التألق الجزيئي	161
التألق الجزيئي وقياسات التفلور والتفسفر	161
طيف الاثارة Excitation Spectrum	162
قياس شدة التفلور أو التفسفر	162
الاخماد Quenching	163
جهاز الفسفوروسكوب لقياس التفسفر Phosphoroscope	164
– الفرق بين التفلور والتفسفر	165
تطبيقات قياس التفلور Fluormetric applications	166
أسئلة الفصل التاسع	168
الفصل العاشر: استطارة أو بعثرة الضوء Light scattering	169
استطارة الضوء	169
بعثرة رايلي Rayleigh Scattering	169
العوامل المؤثرة على حجم الجسيم شبه الغروي	173
تطبيقات مطيافية بعثرة رايلي	174

استطارة رامان Raman spectroscopy	177
أسئلة الفصل العاشر	179
الفصل الحادي عشر: امتصاص الأشعة والقياس باطياف ما تحت الحمراء IR	181
الأشعة تحت الحمراء	181
مطيافية الأشعة تحت الحمراء	181
قانون هوك Hooke's Law	185
مطياف الأشعة تحت الحمراء المزود بمحول فورييه	187
مطياف القياس التداخلي Interferometric spectrophotometer	188
فائدة الطيف التداخلي	189
المعايرة والتقييس	190
نوافذ الخلايا	191
تحضير العينات وأنواع الخلايا المستعملة	192
العوامل المؤثرة على ترددات واهتزازات المجموعة الفعالة	194
التحليل الكمي باطياف ما تحت الحمراء	195
كيف يمكن اجراء التحليل	196
تحضير النماذج للتحليل بأطياف امتصاص تحت الحمراء IR	197
سبكتروفوتومترات ما تحت الحمراء	198
مصادر اطياف ما تحت الحمراء	199
المكاشيف المستخدمة للكشف عن اطياف IR Detector	199
أسئلة الفصل الحادي عشر	202
الفصل الثاني عشر: مطيافية الامتصاص الذري	203
تحاليل الامتصاص الذري Atomic Absorption Analysis	203
الترذيذ Aspiraion or Nebulization	204
التذرية Atomization	205
كيفية حساب كمية داري التأين	207
المكونات الاساسية لجهاز المطياف الذري	208
التذرية الباردة	212
استخدام طريقة توليد الهيدريد Hydride Generation method	212

213	موحد الموجات Monochromator
214	الكشاف Detector
214	التقدير الكمي بواسطة مطياف الامتصاص الذري Quantitative analysis
215	الاحتياطات الواجب اتباعها عند استخدام وتداول العينات للتحليل باستخدام جهاز الامتصاص الذري للعناصر
216	تحضير المحاليل القياسية Preparation of standard solution
217	المعايرة أو التقييس Calibration or Standardization
220	اسلوب تصحيح الخلفية الامتصاصية
221	التداخلات interferences في طيف الامتصاص الذري
223	الحساسية Sensitivity
224	**حدود التقدير Detection Limit**
224	تطبيقات تحاليل الامتصاص الذري
225	أسئلة الفصل الثاني عشر
227	**الفصل الثالث عشر: اطياف الانبعاث الذري**
227	بأطياف الانبعاث
227	طرائق التحليل بأطياف الانبعاث
229	**طريقة البلازما Inductively coupled plasma**
231	أنواع النماذج وكيفية تحضيرها للتحليل
232	راسم الطيف Spectrograph
233	القياس الداخلي
234	أسئلة الفصل الثالث عشر
235	**الفصل الرابع عشر :تحاليل الاشعة السينية**
235	المقدمة
237	ماحيود الاشعة السينية
240	**جهاز انتاج الاشعة السينية**
243	موحد اللون monochromatore
244	أنواع أجهزة الكشف detectores
247	جهاز انتاج الأشعة السينية X– ray production

الطرائق الاخرى للتحليل بالاشعة السينية	249
اسئلة الفصل الرابع عشر	252
الفصل الخامس عشر: مطياف الرنين النووي المغناطيس (NMR)	253
مقدمة	253
الرنين النووي المغناطيسي Nuclear Magnetic Resonance	253
الميزات التالية تؤدي إلى ظاهرةNMR	256
مطيافية الرنين المغناطيسي النووي البروتوني	259
يتكوّن جهاز مطياف الرنين النووي:	260
لازاحة الكيميائية Chemical Shift	263
تأثيرات المذيبات	271
التحليل الطيفي للرنين المغناطيسي النووي الكربوني	272
تطبيقات عملية	273
التعرف على التركيب الجزيئي	274
ثابت الإزدواج (J) Coupling Constant	275
أسئلة الخامس عشر	277
الفصل السادس عشر التحليل الحراري Thermal Analysis	279
التحليل الوزني الحراري Thermogravimetric Analysis	281
مكونات اجهزة TGA	282
الاسس النظرية للطريقة	284
TGA تطبيقات –	286
التحليل التفاضلي الحراري Deferential Thermal Analysis DTA	289
طرق المسح المسعري التفاضلي	292
جهاز المسح المسعري التفاضلي المحدث modulated DSC	294
التطبيقات	295
اسئلة الفصل السادس عشر	296
الفصل السابع عشر: التحليل بمطياف الكتلة	
مقياس مطياف الكتلة	297
المكونات العامة لجهاز مطياف الكتلة	298
الطرق المختلفة لعملية التأين:	299

طرق فصل الكتلة	302
الكواشفdetectors	305
نظام التفريغ:	307
اهم تطبيقات مطياف الكتلة	308
الانشطار (التكسير)Fragmentation	309
اسئلة الفصل السابع عشر	314
الفصل الثامن عشر: طرائق الفصل في التحليل الكيميائي	317
مقدمة	317
تعريف الكروماتوغرافي	317
اهمية الكروماتوغرافي	321
ترتيب الطرق الكروماتوغرافية	324
طريقة الفصل والتحليل	325
كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة thin layer chromatography	325
القوى التي تؤثر على توزيع المواد داخل العمود	326
السلوك الكروماتوغرافي للمادة المذابة	326
معامل السعة Capacity Factor	331
كفاءة العمود في الفصل الكروماتوغرافي	333
طرائق تحسين التفريقية (عزل القمم) Resolution (R)	339
العوامل التي تؤثر على عرض الحزمة Band Broadening	340
نظرية السرعة Rate Theory	342
تقييم عمل العمود Optimization of column performance	349
تفسير وتحليل الشكل الكروماتوغرامي	353
التحليل الكمي quantitative analysis	354
أسئلة الفصل الثامن عشر	361
الفصل التاسع عشر: كروماتوغرافيا الغاز (GC)	363
مقدمة	363
طريقة قياس حجم الغازات في كروماتوغرافيا الغاز	365
الاجزاء الداخلية لجهاز كروماتوغرافيا الغاز	366
العمود في جهاز الGC	369

الساند الصلب أو المادة الصلبة المساندة Solid Support	370
الكواشف	374
انواع الكواشف في كروماتوعرافيا الغاز	376
مشاكل التحليل troubles shooting	380
أسئلة الفصل التاسع عشر	382
الفصل العشرون: كروماتوغرافيا السائل	383
مقدمة	383
كروموتوغرافيا التبادل الأيوني Ion- exchange Chromatography	384
سعة المبادل الايوني capacity of ion exchanger	387
كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي size exclusion chromatography	389
طرائق كروماتوغرافية اخرى other chromatographic methods	391
أسئلة الفصل العشرون	393
الفصل الحادي والعشرون: كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	395
كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC	395
مقارنة بين HPLC وGC	397
الطور المتحرك في HPLC	397
منظومة سحب مكونات المزيج من الطور المتحرك.	398
المضخة pump	399
انواع المضخات	400
حقن النموذج sample injection	401
الاعمدة columns	403
المكشافات Detectors	406
التحليل النوعي والكمي في HPLC	411
مشاكل العمل في HPLC	411
أسئلة الفصل الحادي والعشرون	411
الفصل الثاني والعشرون: طريقة الفصل بالترحيل الكهربائي	413
الترحيل الكهربائي أو الهجرة الكهربائية	413
المحلول الالكتروليتي	414
الهجرة الكهربائية بالانابيب الشعرية والكروموتوغرافي الكهربائية	419

العلاقة بين التدفق الازموزي والتناقلية في الترحيل الكهربائي	420
الجريان الازموزي الكهربائي Electro osmotic flow	422
الأجهزة Instrumentation	423
طرائق الكشف Detection methods	424
تقنيات الترحيل الكهربائي electro phoretic techniques	425
الكهروحركي لكروماتوكرافيا الشعرية	426
أسئلة الفصل الثاني والعشرون	428
الفصل الثالث والعشرون: التحليل الحيوي Bioanalysis	429
مقدمة	429
التركيب الاولي للبروتين primary structure	435
التركيب الثانوي للبروتين Secondary structure	436
التركيب الثلاثي للبروتين Tertiary structure	436
التركيب الرباعي للبروتين	437
الاحماض النووية nucleic acids	437
التحليل المختبري للجزيئات	441
طريقة الترحيل الكهربائي electrophoresis	441
انواع الطرق الكروماتوغرافية المستخدمة	443
الاعمدة	444
الطرائق الطيفية spectroscopic	446
أسئلة الفصل الثالث والعشرون	447
الفصل الرابع والعشرون: التحليل الاحصائي	449
مقدمة	449
الاخطاء المحددة أو النظامية	450
الاخطاء غير المحددة أو العشوائية	450
ألانحراف القياسي (Standard deviation)	452
الضبط والدقة (Accuracy and Precision)	455
التكرارية والاستنساخية (Repeatability & Reproducibility)	457
القانون الطبيعي للاخطاء العشوائية	459
رفض أو استبعاد النتيجة المختبرية Rejecting experimental result	461

العلاقة بين المتغيرات regression analysis	466
معامل الارتباط (r) correlation coefficient	467
الحساسية وحد الكشف sensitivity and detection limit	470
تحليل التباين (Analysis of Variance)	472
أسئلة الفصل الرابع والعشرون	476
الفصل الخامس والعشرون: ممارسة المختبر الجيد	479
المقدمة	479
ضمان الجودة	480
ماهو GLP	481
اجراءات العمل القياسية	483
ضبط الجودة	485
التحقق من صحة النتائج	485
التحقق من صحة الجهاز	489
العناصر الاساسية لممارسة المختبر الجيد	494
نقاط القوة والضعف في GLP	499
اسئلة الفصل الخامس والعشرون	500

المصادر

1. Agilent J & W, "**GC Column selection guide by agilent technology**", order on line at www.agilent.com/chem/store (2007).

2. Albert C. Thompson, David T. Attwood, "**X-Ray Data Booklet**", 2nd ed. (2001).

3. Andreas Manz, Nicole Pamme, Dimitri lossif idis, "**bioanalytical chemistry**", Imperial College Press. *(*2004**).**

4. Arthur S., "**Theory and Applications of NMR Spectroscopy**", Edison Department of Biochemistry & Molecular Biology (2003).

5. Bernhard Blümich, "**Essential NMR for Scientists and Engineers**"**,** Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2005).

6. Braithwait A, Smith F. J., "**gromatography methods**", 5th ed. Kluwer Academic Publishers, (1999).

7. Brianp. Pooth**,** "**welcome to bioanalysis**"**,** bioanalysis 1(1) 1-2, (2009).

8. Christian G. D., "Analytical **Chemistry**", Wiley, New York, (2004).

9. Christop and Maria, "**electrochemistry principles, methods, and applications**", (2004).

10. Christopher M. A. Brett, Ana Maria Oliveira Brett, "**Electrochemistry Principles, Methods, and Applications**", (1994).

11. Danil C. Harris, **Exploring Chemical analysis**", 3rd Ed. W. H. Freeman and Company, (2005).

12. David Harvey"**modern analytical chemistry**", McGraw-Hill Companies, Inc. (2000).

13. Edgar S. Etz, "**Raman spectroscopy**"**,** Elsevier, (2007).

14. Environmenta sciences instrumental methods of analysis"**. Theses** of M.Sc**.(2007).**

15. Ewing G. W., "Instrumental **methods of Chemical Analysis**", 4th ed., McGraw- Hill, New York, (1975).

16. Flemming M. Poulsen, "**A brief introduction to NMR spectroscopy of proteins**" (2002).

17. Francis Rouessac and Annick Rouessac, "**Chemical Analysis, Modern Instrumentation Methods and Techniques**", 2nd Ed., Jone Willy, (2007).
18. Fritz J. S., Schenk G. H., "**Quantitative Chemistry**", 4th ed., Allyn Bacon, Boston, (1979).
19. Gary D. Chritian**,** "**Analytical Chemistry**", 5th edition, John Willy & sons, Inc, (1986).
20. Hanai, T., "**HPLC A Practical Guide**", the Royal Society of Chemistry, (1999.)
21. Harris D. C. ",**Quantitative Chemical Analysis**", 7th ed W. H. Freeman: New York, (2007)
22. Hatakeyama T.**,** Quinn F. X.**,** "**Thermal Analysis Fundamentals and Applications to Polymer Science**"**,** 2nd ed. (1999)**.**
23. Hollas J. M., "**modern spectroscope**", 4th ed. John Willy, (2004).
24. Howard Hill**,** "**development of bioanalysis: a short history**"**,** bioanalysis 1(1), 3-7 (2009).
25. Irwin H. Segel**,** "**biochemical calculation**"**,** 2nd ed. (1976) John Willy**.**
26. J. Michael Hollas "**modern spectroscopy**"4th ed., john willy & Sons, Inc., (2004).
27. Jose A. C. Broekaert, "Analytical **Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas**", john Wiley& Sons, Inc. (2002)**.**
28. JoseÂ A. Broekaert C., "**Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas"**. (2002).
29. Jyrki Kauppinen, Jari Partanen, "Fourier **Transforms in Spectroscopy**" (2003).
30. K Lower, "**Electrochemistry Chemical reactions at an electrodgalvanic and electrolytic cells** A" Chem1 Reference Text Stephen Simon Fraser University (2006).
31. Klaus Danzer, "**Analytical Chemistry Theoretical and Metrological Fundamentals**", Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2007).
32. Lioyd R. S., Joseph J. K., Joseph L. G**.,** "**practical HPLC method development**"**,** 2nd ed. (1998).

33. Lioyed R. Snyder, Joseph J. Kirkland, Joseph L. Glajch, "**practical HPLC method development**", 2nd ed., (2004).
34. Louis F. Fiesser, "**Organic Experiments**", 5th ed. (2002).
35. Mark A. Linne, "**Spectroscopic Measurement an Introduction to the Fundamentals**"**,** June, (2002).
36. Miller J. C., Miller J. N., "**Statistics for Analytical Chemistry**", 2nd ed., Ellis Horwood Limited, (1992).
37. NMR Spectroscopy: "**Principles and Applications",** Nagarajan Murali Basic Concepts Lecture 1 spring (2010).
38. Paul C. Sadek, "**illustrated pocket dictionary chromatography**", John Wiley & Sons, Inc., (2004).
39. Raymond C , "**chemistry**", 6th ed., McGraw-Hill,(1998)
40. Raymond P. W.**,** "**Gas Chromatography Detector**" (2003).
41. Richard F. Venn, "**principles and practice of bioanalysis**"**,** Taylor & Francis, (2005)**.**
42. Richard F. Venn, "**Principles and practice of bioanalysis**" 2nd Ed. Taylor & Francis e-Library, (2005).
43. Ruth Freitag, Capillary, "**Electrochromatography**" Springer- Verlag Berlin Heidelberg, (2002).
44. Siegbahn M., "X-**RAY Spectroscopy**". Chapter 16, (2000).
45. Skoog D. A., Holler F. J. Crouch S. R., "**Principles of Instrumental Analysis**"**,** New York, (2007).
46. Skoog et al, "**Fundamentals of Anal. Chem**.", 8th ed., (2004).
47. Skoog, Douglas A. West Donald M., "Principles **of Instrumental Analysis**", 6th Ed. Phladephia, (1998).
48. Tutorial: "**Capillary Electrophoresis**", Yan Xu Cleveland State University Cleveland, Ohio (2004).
49. University of Texas, "CHEM4461/5461, **instrumental analysis**", Laboratory Manual & Course Guide, (2011).
50. Vasile M. I**.,** "**Stationary Phases by Petroleum and Gas**", University of Ploieşti, Romania, (2005).
51. Vogel A.I., "**Textbook of Quantitative chemical Analysis**", , Brothers Publications., Longman, London (1975).
52. Vogels A. I, "**qualitative in organic analysis**" 5th Ed. (1978).
53. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Handbook: **good laboratory practice (GLP)**, (2009)**.**

54. Michael Z.**, introduction objectives and key requirements for GLP regulations,** john wiley & sons, inc, (2011)**.**
55.Encyclopedia of Materials Characterization, Lee E Fitzpatrick, **Chapter 4**, page no. 198-203, (2014).
56.https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/XRD.html.
57. Muhammad M. H, Mohammad Y. A., **Principles of Physical Chemistry**, Brothers Publications, Banglabazar, 2nd Ed , p 352-354 ,(2016).
58. Mark Maciejewski, **Basics of NMR Spectroscopy**, (2016).
59. Simon Kelly, Andreas Hilkert, **Modern Techniques for Food Authentication**, 2nd Ed, (2018).
60. David Attwood and A. Sakdinawat, **X-Rays and Extreme Ultraviolet Radiation: Principles and Applications**, Cambridge University Press, (2016).

المصادر العربية

1. "**المقرر العملي للتحليل الآلي**"، كلية العلوم التطبيقية- قسم الكيمياء- جامعة طيبة/ المملكة العربية السعودية،(2003).
2. حبوش البرتين، "**طرائق الفصل في التحليل الكيميائي**". جامعة بغداد.
3. د. سهيله طالب حمودي، "**التحليل الطيفي للمركبات العضوية**". كتاب مترجم، مطبعة جامعة البصرة. (1980).
4. د. صفاء المرعب. " **طرائق الفصل**". مطبعة التعليم العالي (1988).
5. د. عمر بن عبد الله، "**الكيمياء الكهربائية المتقدمة**". قسم الكيمياء- كلية العلوم التطبيقية- جامعة ام القرى.
6. د. فاضل جاسم محمد واخرون، "**التحليل الكيميائي الالي**"، مطبعة جامعة بغداد، 1984.
7. د. مؤيد قاسم العباجي ود. ثابت سعيد غبشه، "**اسس الكيمياء التحليلية**"، مطبعة جامعة الموصل(1983).
8. د. هادي كاظم عوض واخرون، **الاساسيات النظرية- التحليل الكمي الوزني والحجمي للكيمياء التحليليه اللاعضويه**"، (1980).
9. سامي عبد الهادي المظفر، "**البروتينات**"، ط1، دار المسيره للنشر، عمان (2009).
10. شيخة الغنام، "**التحليل الكيميائي الالي**"، (2002).
11. نايفة بنت مشعل الشعلان، فاتن خالد شومان. قسم الكيمياء- كلية العلوم -جامعة الملك سعود، "**تقدير الكولسترول في الاطعمة والدهون وبلازما الدم بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة ذات الاداء العالي**"، رسالة ماجستير، (2004).
12. وسام قاسم الشالجي وآخرون، "**التحليل الآلي**"، (1993).

طرائق وتقنيات حديثة في التحليل الكيميائي الآلي

أ.د. جميل موسى ضياب الزيدي

اعمل الخير بصوت هادئ . فغدا يتحدث عملك بصوت مرتفع

لا اعرف رفيقا أطوع . ولا معلما أخضع ولا صاحبا أظهر كفاية ولا أقل جناية ولا أقل تعللا وتكللا من كتاب.

الجاحظ

مكتب زاكي للطباعة
بغداد . باب المعظم
رقم الايداع في دار الكتب والوثائق ببغداد ٦٢٩ لسنة ٢٠٢١