Separation Methods

Assist Pro. Dr. Hasanain abdullsamad

الكورس الثاني / الدراسات العليا / 2025

Type of Separation :

1- Gravimetric Method

2- Solvent Extraction Method

3- Ion Exchange Method

4- Chromatographic Method

a- Adsorption Chro. Gas – Solid Chro. (GSC) & Liquid – Solid Chro.(LSC)

b- Partition Chro. Gas – Liquid Chro. (GLC) & Liquid – Liquid Chro. (LLC)

Chromatographic Method

Paper chromatography :

هو من نوع partition (liquid – liquid Chro.) الا في حالة (activation) التسخين لطرد المذيب الورقة نفس الشيء مع TLC

(تدرس كافة المصطلحات – تحضير الورقة - عملية التظهير – المذيب المستخدم - التقنية الصاعدة والنازلة – التقنية باتجاهين- Rf - التحليل الكمي – التحليل الوزني)

a - in case of unmodified cellulose :

-هنا لدينا مجموعتان تسيطر على حركة العناصر المختلفة

المجموعة الاولى : تزيد من الإذابة في الطور العضوي و تكون هنا قيمة R_fعالية .

هذه الاملاح اللاعضوية تكون غير ذائبة بالمذيبات العضوية الا في حالة تكوينها معقدات . مثال على ذلك العناصر الموجودة في مذيبات حاوية على donor oxygen وبوجود (HCl مكونه معقدات الكلورو)

المجموعة الثانية : تكون هنا قيمة R_f واطئة (أي بقاء مكونات المزيج في الطور المائي الساكن لسيليلوز الورقة) وذلك بسبب وجود متداخلات مثل anion مع عناصر الفلزية مكونة معقدات ذائبة بالماء

b- in case of modified cellulose :

هنا يتم ادخال مجاميع مثل :

مجاميع diethylaminoethyl (- $N^+(C_2H_5)$

مجاميع الكاربوكسيل مثل – $COOCH_3$

مجاميع الفوسفات - H_2PO_4

في المجاميع اعلاه يحصل ion ex

كرموتوغرافيا الطور المعاكس

تستخدم للمواد الشحيحة الذوبان بالماء والتي لا تنفصل بالورقة الاعتيادية بسبب انتقالها مع مقدمة المذيب (بمعني اخر تبقى ذائبة بالمذيب العضوي) . فتعتمد التقنية على تجفيف الورقة واشرابها وتشبعها بزيت (مثل الزيتون او البرافين) كي تصبح الورقة مشبعة وقادرة على امتصاص المادة العضوية الموجودة في المذيب ومن ثم يحصل partition للمادة بين المذيب المشبع على الورقة وبين المذيب الاصلي.

الكتروفوريسز Electrophoresis

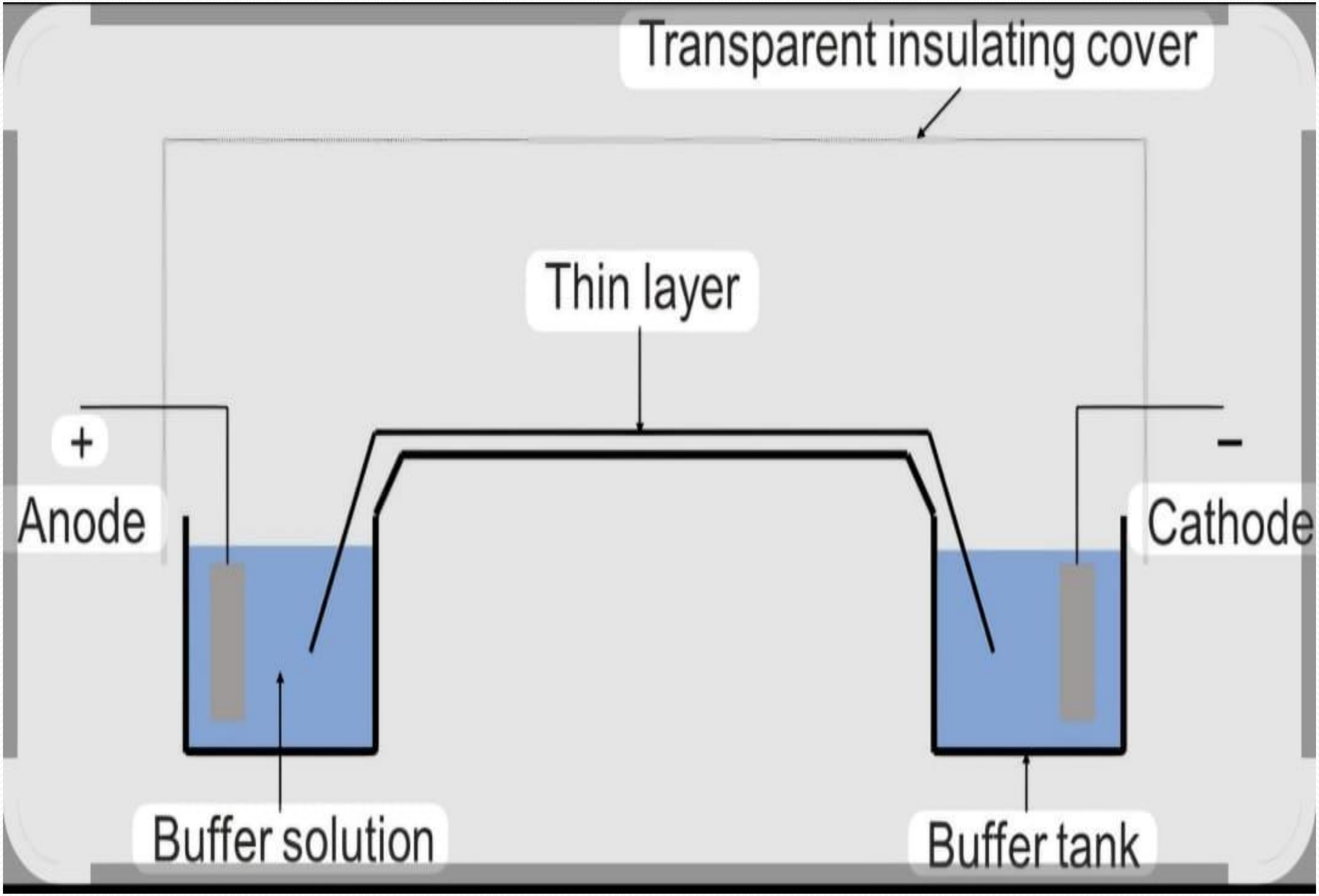
هو نوع من الفصل الورقي ولكن باستخدام جهد كهربائي . ويعتمد على الخواص الكهربائية لمكونات الخليط .

حيث تقف الدقائق المشحونة في مكان على طول مسارها نحو الالكترودات .

وتستخدم هنا شرائط وورق ترشيح خاصة او (2)starch gel

تستخدم مع المادة المراد فصلها او تقديريها مواد قياسية لمقارنة حركتها وذلك لعدم وجود مقدمة للمذيب لمقارنة حركة البقعة تبلل الورقة بمحلول منظم ويغمس طرفي الشريط في وعائيين من نفس المحلول المنظم . وعند امرار تيار كهربائي يعمل الوسط السائد (الشريط مع محلول المادة) جسرا كهربائيا للتوصيل الكهربائي حيث تتحرك الايونات المشحونة باتجاه الالكترود المعاكس لها بالشحنة . اما المواد المتعادلة تبقى دون حركة الا اذا تم تحويلها الى مشحونة من خلال تكوينها معقدات مع أيونات المحلول المنظم .

يعتمد الفصل على معدل سرعة هجرة أيونات المادة (وهذا يعتمد على الجهد المستخدم وعلى التركيب الكيميائي للمادة) تستخدم اشرطة ورقية شفافة مصنوعة من خلات السيليلوز وذات مسامية اصغر حجما من الورق الاعتيادي تستخدم هذه التقنية في التشخيص الطبي لعينات سيرم الدم والحاوية على البروتينات والشكل الاتي يمثل مخطط لهذه التقنية


Transparent insulating cover
Thin layer
+
Anode
–
Cathode
Buffer solution
Buffer tank

Buffer solution المحلول المنظم

الذي يعتبر هو المذيب (الطور المتحرك) والذي له الاثر الكبير في عملية الفصل والهجرة نحو الاقطاب . فمثلا لو كان المحلول المنظم هو حمض الخليك والخلات فانه

HAc <=====> H+ + Ac-

فعند منتصف مرحلة التعادل (50%) نلاحظ 50% من – Ac و % 50 من HAc وعليه فانه

pH = pKa = 4.76

فاذا كانت pH اقل من 4.76 فهذا يعني ان - Ac اقل من % 50 بالتالي فان نسبة الحامض غير المتفكك (HAc) اكثر ويحصل هجرة نحو احد الاقطاب وتستمر الهجرة أي ان نصل الى (pH = 2على فرض ان الحامض غير متفكك ولا يوجد ملح) هنا لا يحدث أي نزوح للأيونات (Isoelectric point) والعكس صحيح اذا كانت pH > 4.76 الى ان نصل الي (pH = 8هذا يعني % 100 من مرحلة التعادل، وتكون نسبة الملح اعلى ما يمكن ولا يوجد أي حامض فتتجه الايونات نحو القطب المعاكس).

فلو اخذنا المثال التالي لفصل الاحماض الأمينية

R		R		R
|		|		|
H_3N^+-CH-COOH	<======>	H_3N^+- CH-COO-	<=====>	H_2N- CH-COO
Cation (acidic form)		Neutral (salt)		Anion (basic form)
+ electrode				- electrode

توجد نقطه عند pH معينه لا يحصل عندها انتقال وتسمى نقطة تساوي الجهد (isoelectric point)
الجزئيات غير المشحونة مثل الكربوهيدرات لا تنفصل الا بعد تكوينها معقد أيوني مع البورات في محلول قاعدي

المحاضرة الأتية متقدمة (advance)

الطريقة تعتمد على المجال الكهربائي الناتج عن :

1- Ions in solution move in a direction determined by their sign of charge
2- Ions velocity determined by the magnitude of their partial charge and mobility

يتم تنقيط النموذج في مركز الشريط الورقي والمغموس في المحلول المنظم وفولتيه تتراوح بين 2000-500 فولت عند نهايتي الشريط . ومن الضروري تبريد apparatuse بسبب الحرارة الناتجة .

Velosity of migration (cm/min) تتكون من حدين :

The velocity of migration due to the potential difference applied is composed of electrophoretic and osmotic terms

$$v = v_e + v_o \text{ --------- } 1$$

uncharged particals also move but at lower velocity because of the osmosis (v_o). The elctrophoritic migration (v_e) is given by this eq.

$$v_e = \mu (V / L) f \{ 1 / (K_d + 1) \} \text{ ---------------- } 2$$

where :

μ is mobility of the ion (cm2.volt-1min-1) (defind as path length (cm) travelled by the ion in 1 min. when 1 volt / cm potential drops applied) .

V is the potential difference between the ends of the paper (volts)

f is tortuosity factor (عامل الالتواء)

L is the length of the paper strip between the two electrodes (cm)

K_d is distribution coeff.

In the absence of the porous solid carrier ($f = 1$ & $K_d = 0$) , the μ be constant .

في المحاليل المائية فان mobility للأيونات تزداد بسبب (V_o) بينما تقل للأيونات السالبة

اما اذا لدينا $M2+$ يكون معقد غير مشحون ML مع الليكاند L-2 وان $K_{d,M} = 0$ وعليه فان معادلة 2 تصبح

$$V_{e,M} = \mu_M (V / L) f \Phi_o \text{ -------- } 3$$

(where Φ_o is mole-fraction of the free metal ion)

$$\Phi_o = 1 / (1 + [L] \beta_1) \text{ ---------- } 4$$

$$\Phi_2 = \beta_2 [L]^2 / (1 + \beta_1 [L] + \beta_2 [L]^2) \text{ ------- } 5$$

حسب معادله 3 فان migration للأيون الفلزي يقل بزيادة تركيز الليكاند ففي التراكيز العالية لليكاند فان قيمة $\Phi_0 = 0$ وعليه تكون $V_{e,M} = 0$ وبالتالي فان السرعة تكون ناتجه عن الازموزي V_0 فقط .

In case of negatively charged complex ML_2^{2-} the velocity of migration of phoresis will be :

$$V_e = (V / L) f (\mu_M \Phi_0 - \mu_{ML_2} \Phi_2) \text{ ------------ } 6$$

حسب ما واضح من المعادلة اعلاه انه كلما قل تركيز الليكاند فان السرعة تزداد وبالتالي زيادة نحو الاتجاه المعاكس . (القطب الموجب طبعا)

In case of positive complex H_2A^+ (cause we have A^-) :

the velocity of migration of phoresis will be :

$$V_{e,A} = (V / L) f (\mu_{H_2A} \Phi_{H_2A} - \mu_A \Phi_A) \text{ ---------- } 7$$

1- في المحيط القاعدي فان Φ_A كبيرة و Φ_{H_2A} صغيرة وبالتالي $V_{e,A}$ تكون اكثر سالبية ويكون الاتجاه نحو الأنود .

2- وعند الاستمرار بنقصان بـ (pH نحو حامضية اكبر) نلاحظ نقصان في Φ_A

وزيادة في Φ_{H_2A} وتصبح قيمة $V_{e,A}$ اقل سالبية (اكثر ايجابية) الي ان نصل عند

قيمة معينه من pH يحصل $\mu_{H_2A}\,\Phi_{H_2A} = \mu_A\,\Phi_A$

وبالتالي تصبح $V_{e,A} = 0$ وعندها لا يحصل migration وهنا نحصل على ما يسمى بـ (isoelectric point)

3- عند نقصان اكثر في (pH محيط حامضي) فانه يحصل عكس الفقرة (1) ويكون الاتجاه نحو القطب السالب (الكاثود) .

- ففي حالة الأمينو اسيد و البروتينات و الببتيدات يكون هنا $K_{dA} = K_{dH_2A}$ و

$\mu_{H_2A} = \mu_A$ وتصبح معادلة 7 كما يلي :

$$Ve = B(\Phi_{H_2A} - \Phi_A) \text{ ---------- } 8 \quad \text{where } B = \mu (V / L) f \{ 1 / (D + 1)$$

بالنسبة للهستدين

نلاحظ من الشكل ادناه انحراف كبير قرب نقطة isoelectric وذلك بسبب تأثير الـ osmosis وانه قيمة

$pH_{iso} = 7.6$

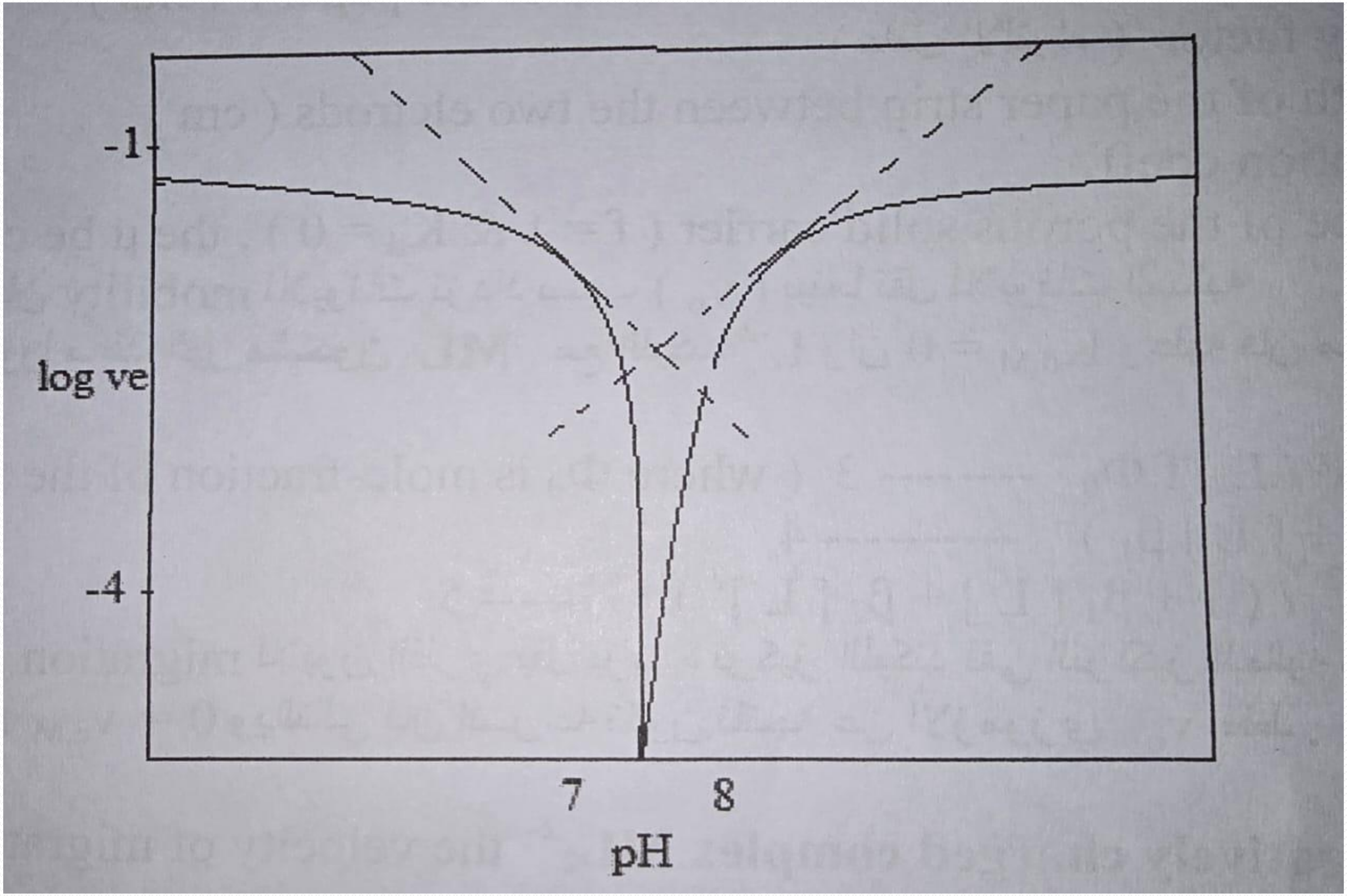
فان تقاطع المماسين عند pHiso والتي يمكن الحصول عليها من المعادلة التالية:

$$pH_{iso} = (\log K_1 + \log K_2) / 2 \text{ ---------------- } 9$$

if log K_1 & log K_2 for hestidine are 9.1 & 6.1

So

$$pH_{iso} = (9.1 + 6.1) / 2 = 7.6$$


-1
-4
log ve
7
8
pH

Thin layer Chro. (TLC)

هي تقنيه مشابه الى حد كبير لتقنية الورقة الا انها تختلف عنها من حيث :-
١.فصل افضل
٢. اكثر وضوحا في الفصل
٣. اسرع
٤.اكثر حساسية
٥. اكثر ملائمه

تعتبر من نوع (liquid – liquid chro.) partition الا اذا سخنت لتجفيفها بالكامل وتبخر الماء الموجود فيها بدرجة (activation (150 – 200 c فتتحول الى نوع (liquid -solid chro.) adsorption

- يلعب المذيب (الطور المتحرك) دورا مهما في احتباس (حجز) المذاب وذلك من خلال منافسته للمواد المذابة لأشغال المواقع الفعالة (active sites) على سطح الطور الصلب الممتز وتكون قيمة Rf مقاربة الي الصفر.
- وعندما تكون منافسة المذيب قليلة (جذب قليل نسبيا تجاه الممتز) نرى المادة (المذاب) تميل للالتصاق وتتحرك ببطء مقارنة بالطور المتحرك، اما اذا كانت منافسة كبيرة فعندها المادة تزاح بمعدل حركة المذيب نفسه ولا يحدث فصل وتصعد مع المذيب وتكون قيمة Rf مقاربة الى واحد.

Column Chro. :

يتم دراسة الاصطلاحات مثل زمن الاحتباس - حجم الاحتباس - انواع الأعمدة - HETP - النظريات - عيوب النظريات - معادلة فان ديميتر - تحضير العمود - بعض القوانين الخاصة بهذه التقنية

t_r is retention time

يعرف على انه الزمن (او المسافة المقاسة) من بداية زرق العينة لحين ظهور القمة

$v_r = t_r v$

v_r & v are retention valium & velocity of eluent respectively $v_r = v_m + K_d v_s$

v_m & v_s are are valium of mobil and stationary phases respectively K_d is distribution coeff. (partion coeff.)

$K_d = C_s / C_m$ (where C_s & C_m are conc. Of solute in stationary and Mobil phases respectively)

Relative retention time (R_t) = (time require for solvent to pass through column / Time solute)

- اذا كانت قيمة K_d كبيرة يعني ان المذاب يفضل الطور الساكن وعليه يتحرك ببطء خلال العمود.
- اما اذا كانت صغيرة فيعني انه يفضل الطور المتحرك ويتحرك بسرعه خلال العمود.
- درجة الفصل نزداد بزيادة طول العمود L و كذلك زيادة في عدد الصفائح النظرية N .

$L = N H$ (H = HETP) (height equivalent to the theoretical plates)

$N = (4t_r / \mu)_2 = 5.54t_{r2} / \mu_{21/2}$

So $\mu = 1.7\ \mu_{1/2}$

$R = (t_{R2} – t_{R1}) / 1/2 (w_{1} + w_{2})$

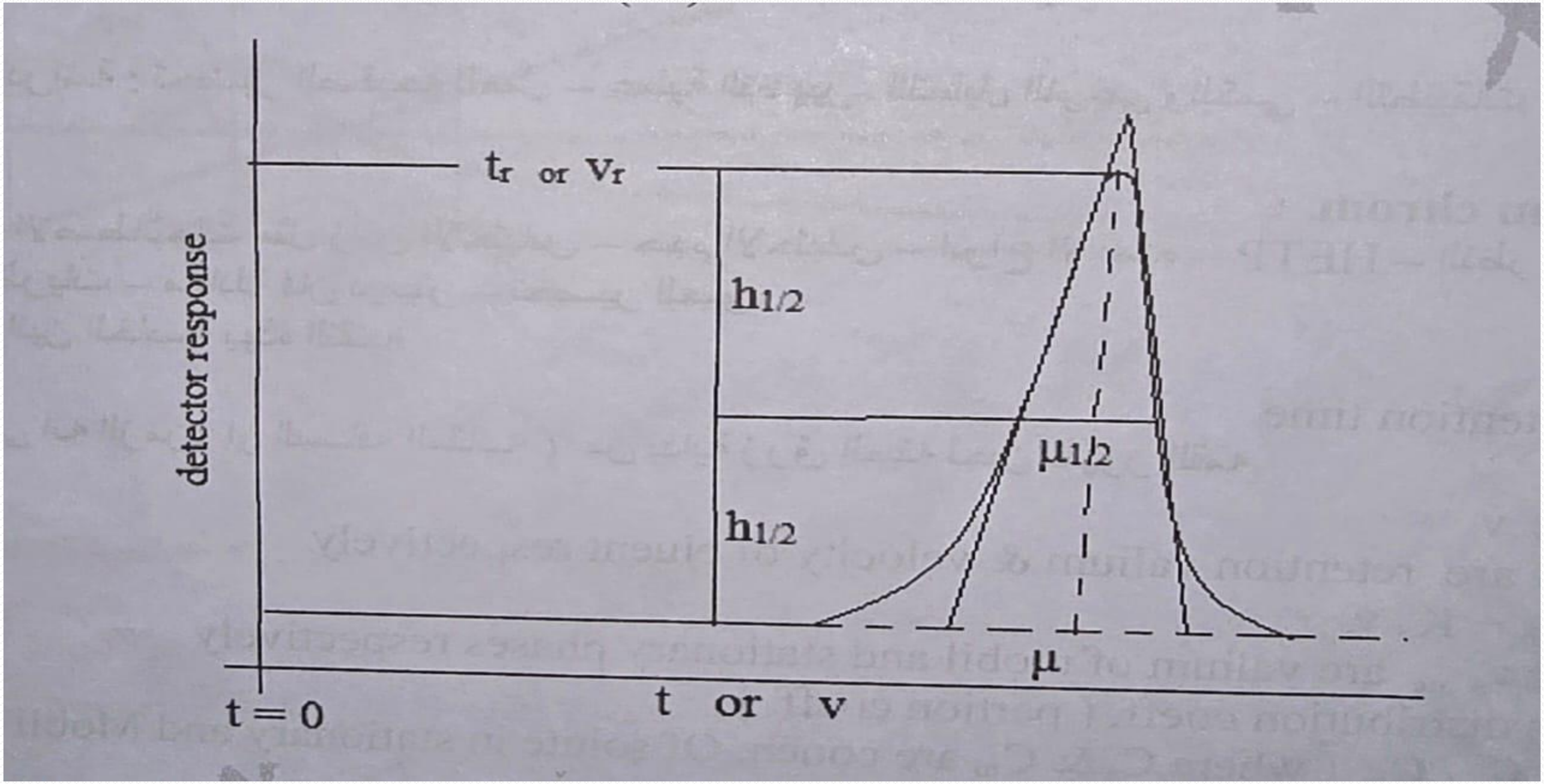
Ethanol & Methanol are separated in a capillary GC column with retention of 280 & 300 s. respectively , and base widths (W_b) of 8 & 14 s.with times factor , the Calculate separation an unretained air peak occurs at 10 s. resolution and no. of plates

$N = (4t_r / \mu)_2 = (4 \times 300 / 14)_2 = 7347$ plates

$R = (t_{R2} – t_{R1}) / 1/2 (w_{1} + w_{2}) = 300 – 280 / 1/2 (8 + 14) = 1.82$

متى يكون الفصل افضل؟

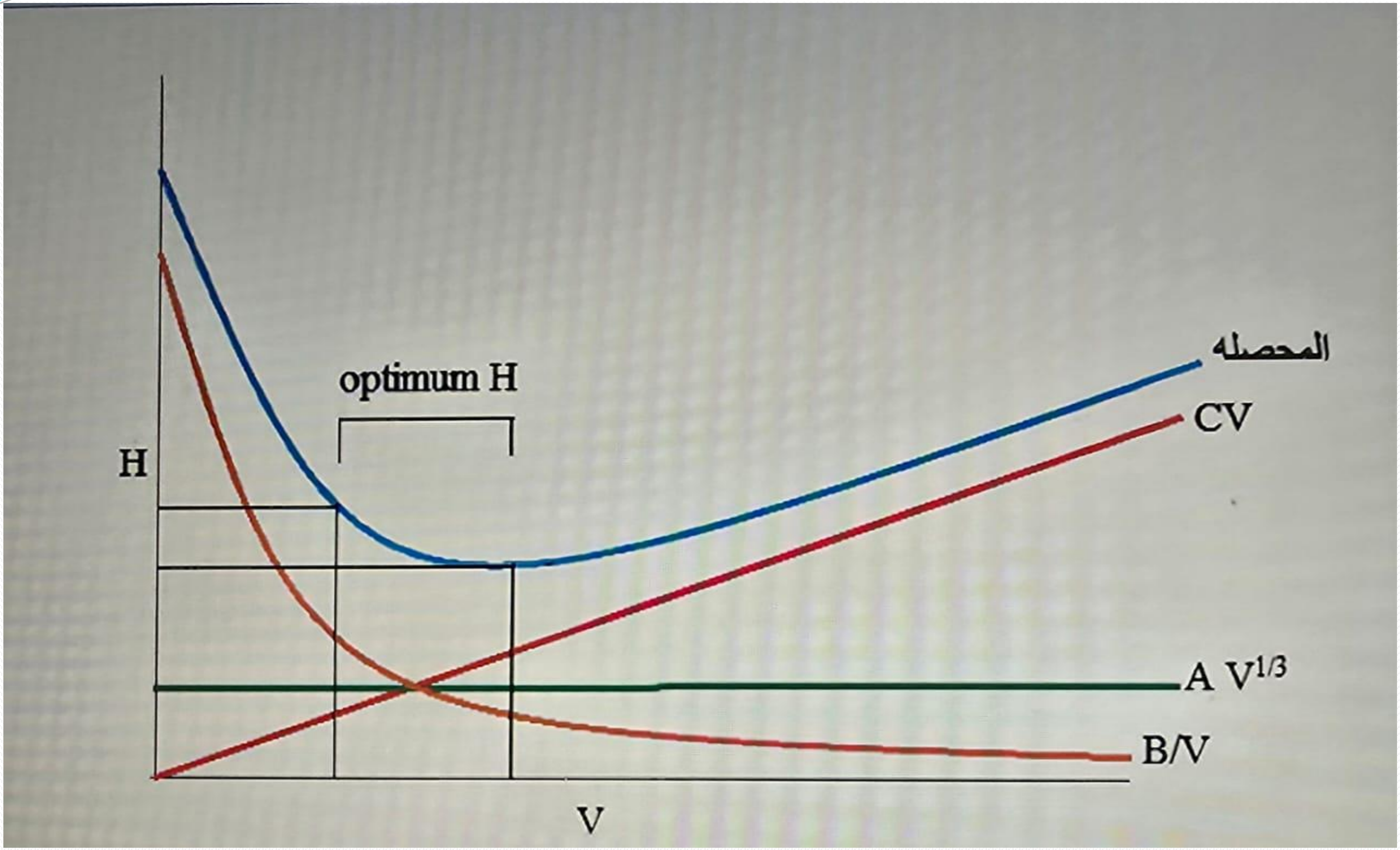
- عندما يكون البسط كبير أو المقام صغير
- لما تزداد قيمة N (H قليلة)
- أفضل لما يكون طول العمود اطول



Van demetery eq.

H = A $V_{1/3}$ + B / V + CV (V is mobil phase velocity A,B&C are consts.)

ماذا يعني اذا كانت Vعالية او واطئة ؟



المحصله
optimum H
H
CV
A V^1/3
B/V
V

Molecular exclusion Chro. (gel-filteration Chro.)

كرموتوغرافيا الابعاد الجزيئي (كرموتوغرافيا الترشيح بالجل) :

يتم هنا الفصل اعتمادا على حجومها وعلى اشكالها حيث يمكن فصل جزئيات لها نفس الاوزن لكن مختلفة في تراكيبها. تستخدم هذه التقنية في فصل الجزئيات الكبيرة بالوزن الجزيئي مثل الكربوهيدرات والبروتينات والبوليمرات. الطور الساكن يتكون من مادة الجل والمكونة من مسامات ذات حجوم معينة. حيث ان الجزئيات التي لها حجم اقل من هذه المسامات فأنها تخترقها والعكس صحيح أذ تنتقل مع الطور المتحرك وتزاح بسهولة.

$k_d = C_s / C_m$

$V_r = V_m + k_d V_s \quad k_d = (V_r - V_m) / V_s$

V_r حجم الاحتباس
V_m حجم الطور المتحرك خارج فراغ المسامات
V_s حجم الطور الثابت داخل فراغ المسامات
V_t الحجم الكلي للمذيب

$V_s = V_t - V_m \quad V_t = L \pi r^2$

r is radius of column

ملاحظة : تدرس البقية من الكتاب (مدخل الى طرق الفصل)