طرائق الفصل الكيميائي

Separation Methods

تعتبر طرائق الفصل الكيميائي من الطرائق التحليلية الهامة، والتي تستخدم للأهداف التالية:

1 – التنقية: أي الحصول على المواد المختلفة بصورة نقية، دون وجود الشوائب العالقة بها، كما أن الحصول على المادة النقية يجعل من السهل إجراء التحاليل الكمية عليها لمعرفة تركيزها، أي أن طرق الفصل الكيميائي مهمة للغاية سواء في التحليل الوصفي أو الكمي على حد سواء.

2– حذف التداخلات: أي تستخدم لمنع التداخل أثناء التحليل الكيميائي.

3– فصل المادة الفعالة (هدف التحليل) عن الجملة المعقدة الموجودة فيها: وفي كثير من الأحيان تعتبر عملية الفصل هامة وضرورية عند الحاجة إلى اجراء اختبارات على المادة النقية مثل الاختبارات الطيفية (IR, NMR and mass spectrometry).

4– فصل مزيج مجهول وتحديد هويةٌ مكوناته وتركيزها

طرائق الفصل المعروفة

تعتمد تقنيات الفصل على وجود اختلاف في خاصية واحدة على الأقل من الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمواد المراد فصلها مثل الانحلالية والانحلال المجزأ والإمتزاز ودرجات الغليان والانصهار والتبادل الأيوني وحجم الجزئيات وكلما زاد الاختلاف في خاصية من هذه الخصائص كلما كانت عملية الفصل أسهل.

يتضمن الجدول الآتي تصنيف تقنيات الفصل وفقاً للخصائص الفيزيائية والكيميائية

أساس الفصل	تقنية الفصل
الحجم	الترشيح الديلزة كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي
الكتلة والكثافة	الطرد المركزي(التثفيل)
تشكل معقدات	الحجب
تغير الحالة الفيزيائية	التقطير إعادة البلورة
تغير الحالة الكيميائية	الترسيب والتبادل الأيوني
التجزئة بين الطورين	الاستخلاص الكروماتوغرافيا

1-الفصل المعتمد عل الاختلاف في الانحلالية:

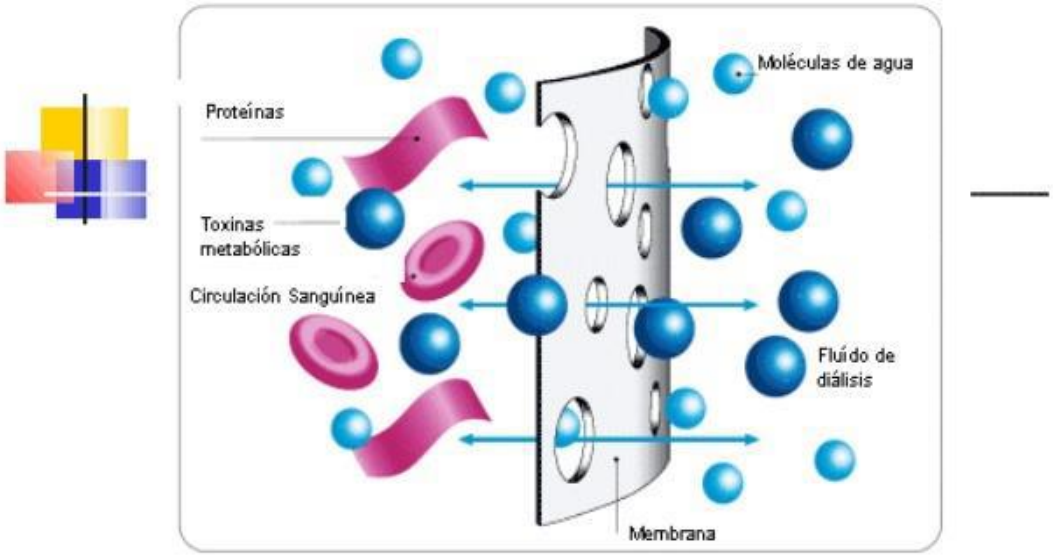
عند إجراء تحاليل كيميائية لمزيج من مواد صلبة نلجأ إلى استخدام مبدأ الانحلال المجزأ حيث يعامل هذا المزيج بعدد من المحلات يقوم كل محل منها بحل أحد مكونات العينة الأساسية.
مثال: إذا احتوى مزيج على مادتي الديجتالين واللاكتوز يتم استخدام مزيج من محلين غير قابلين للامتزاج، يستخدم الكلوروفورم لحل الديجتالين والماء يحل اللاكتوز وبالتالي نحصل على طورين منفصلين يحتويان على مادتين تم فصلهما من العينة الأساسية مباشرة، ولكي تكون عملية الفصل المجزأ ناجحة لا بد من اختيار المذيب المناسب لحل مكونات العينة بشكل تام.

2 -الفصل المعتمد على الحجم:

1) عملية الترشيح : تتم عملية الفصل باستخدام غشاء مسامي يمكن أن يمر عبره المذاب أو المتداخل فقط، وتعّد هذه التقنية هامة في تحليل المياه الطبيعية التي توجد فيها أجسام صلبة معلّقة يمكن أن تتداخل في التحليل، كما يمكن استخدام تقنية الترشيح لعزل مادة تتواجد على شكل حبيبات صلبة غير منحلة، وقد كانت هذه العملية إحدى مراحل التحليل الوزني الضرورية لعزل الراسب.

2) الديلزة: طريقة لفصل المواد الكيميائية بالاعتماد على مبدأ ظاهرة الانتشار وهي عملية انتقال الجزئيات من المحلول الأعلى تركيز إلى المحلول الأقل تركيز باستخدام غشاء نصف نفوذي مصنوع من السيليلوز ذي مسامات تتراوح ما بين 1-5nm حيث توضع العينة ضمن أنبوب مصنوع من مادة الغشاء .يوضع غشاء الديلزة الحاوي على العينة في وعاء حاوي على محلول الديلزة (محلول التنقية).

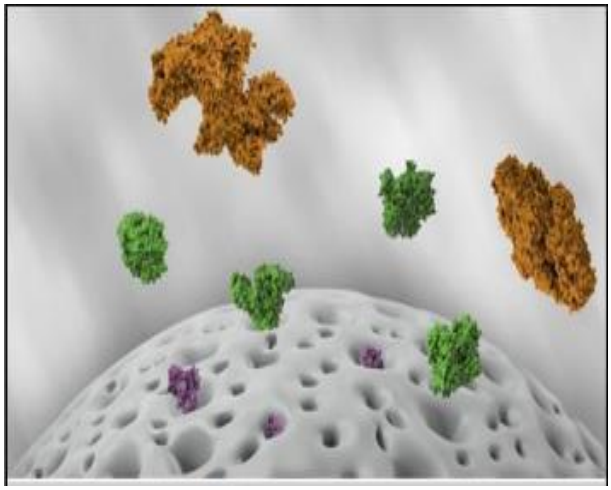
* تستخدم عملية الديلزة في تنقية الدم حيث يمنع الغشاء مرور خلايا الدم والبروتين والعناصر الأخرى المهمة بينما يسمح بمرور اليوريا والكرياتينين والسوائل الزائدة وبالتالي يتم التخلص منها.

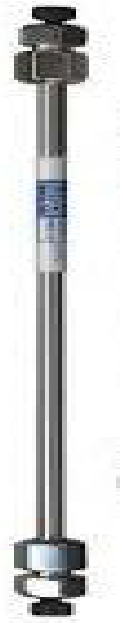


3) كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي (كروماتوغرافيا المنخلية):

تدعى هذه الطريقة أيضا كروماتوغرفيا الهلامية أو الاستبعاد الجزيئي في هذه التقنية يعبأ العمود بمادة هلامية على شكل حبيبات مسامية صغيرة 10µm تقريباً (مناخل)
والمواد الهلامية عبارة عن بولي إكريل أميد أو الكربوهيدرات البوليميرية التي تتمتع ببنية شبكية، أغلب هذه المواد تكون محبة للماء hydrophilic وهي قابلة لامتزاز الماء أو أي مذيب قطبي آخر

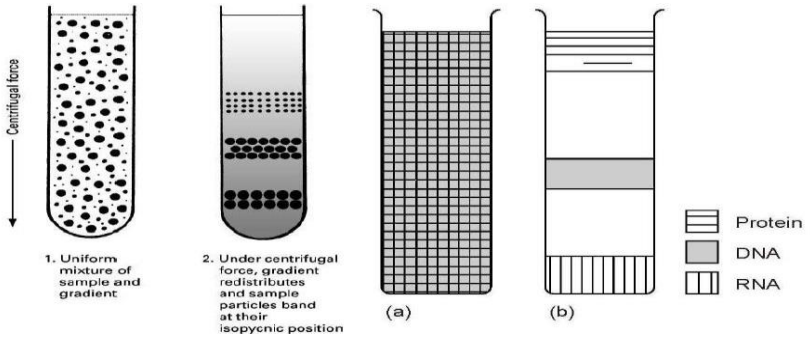
وقليل منها يميل لامتزاز المذيبات غير القطبية وفي كلا الحالتين يتم نقع المادة الهلامية في المذيب وبالتالي يحدث انتفاخ لجزيء الهلام الذي يسبب فتح البنية.
توضع العينة المراد فصلها في تيار مذيب يضخ عبر العمود بمعدل تدفق ثابت وهكذا تبدأ عملية الفصل، فالمواد التي حجم جزيئاتها كبير لا تمر عبر المسامات ولا تخضع للاحتفاظ من قبل حشوة العمود وتمر خلاله بالسرعة نفسها التي يتدفق معها المذيب (الطور المتحرك)، أما الجسيمات القادرة على دخول بنية المسامات فتأخذ زمنا أطول للمرور خلال العمود، كما أن الجسيمات الأكثر صغراً التي تخترق عمقاً أكبر في بنية المسامات تأخذ زمنا أطول وهكذا. تستخدم كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي في تحليل البوليميرات وفي فصل البروتينات وعدد من السكريات والأنزيمات.





3-الفصل المعتمد على الكتلة أو الكثافة:

عند وجود اختلاف بالكتلة أو الكثافة بين مذاب ومتداخل يمكن عندئذ استخدام التثفيل(الطرد المركزي) لفصلهما عن بعضهما البعض، حيث توضع العينة على شكل معلق في أنبوب تثفيل ويتم تسريع السرعة الزاوية (زيادة عدد الدورات بالدقيقة) فالجسيمات الخاضعة لقوة تثفيل أكبر تكون أسرع في ترسبها وتهبط إلى أسفل الأنبوب. من أجل الجسيمات متساوية الكثافة يتم الفصل بالاعتماد على الكتلة فالجسيمات الأثقل تمتلك سرع ترسيب اكبر، أما الجسيمات متساوية الكتلة فإن الترسيب الأسرع يحدث مع الجسيمات ذات الكثافة الأعلى . يأخذ التثفيل أهمية خاصة كتقنية فصل في الكيمياء الحيوية، إذ يمكن استخدامه لفصل المكونات الخلوية.
مثلا يمكن فصل مزيج من البروتين DNA و RNA باستخدام تثفيل بالاعتماد على الاختلاف في كثافتها، يكون تدرج الكثافة من $1.35g/cm^3$ إلى $1.8g/cm^3$ فالبروتين ذي الكثافة أقل من $1.3g/cm^3$لا يترسب بينما RNA ذي الكثافة أكبر من $1.8g/cm^3$ يترسب أسفل الأنبوب، أما DNA ذي الكثافة $1.7g/cm^3$ تقريباً ينفصل على شكل عصابة قرب منتصف الأنبوب.



4 -الفصل المعتمد على الحجب:

تضاف العوامل الحاجبة للتخلص من تأثير بعض الشوارد المشوشة على عملية التحديد والتي تتفاعل مع الكاشف المستخدم في الدراسة مما يسبب بخطأ في عملية التحليل .حيث يشكل العامل الحاجب مع الشاردة المتداخلة معقد منحل (تشكل معقدات) وأيضا تستخدم لزيادة انتقائية الطريقة.

الانتقائية: هي قدرة الطريقة التحليلية على تعيين الشاردة المدروسة بوجود خلفية مشوشة ومعقدة.

أمثلة:

1- يستخدم كاشف سيانيد البوتاسيوم KCN لحجب تأثير بعض العناصر المعدنية أثناء تعيين عناصر معدنية أخرى. من أجل تحديد شوارد الكالسيوم في محلول يحوي شوارد الكادميوم(شاردة معيقة) باستخدام كاشف EDTA يضاف كمية مناسبة من KCN لحجب تأثير شوارد الكادميوم.

2- تستخدم شاردة الفلوريد لحجب ومنع تأثير شاردة الحديد الثلاثي من التداخل مع شوارد النحاس.

طريقة التحليل: المطلوب إيجاد تركيز شوارد النحاس بوجود شوارد الحديد الثلاثي Fe^{3+} بالطريقة اليوديمترية(معايرات الإزاحة أو معايرة غير المباشرة)يتم إضافة فائض من شوارد اليوديد I^- التي تتأكسد بشوارد النحاس إلى اليود الحر ثم يعاير اليود المتحرر بثيوكبريتات الصوديوم، لكن وجود شواردFe^{3+} يسبب إعاقة في التحليل لأنه أيضا يقوم بأكسدة I^-. ولحل هذا التداخل يتم إضافة كمية مناسبة من شوارد الفلوريد التي تشكل مع شوارد Fe^{3+} معقدا ثابت من $[FeF_6]^{-3}$

$$2Cu^{2+} + 4I^- \leftrightarrow 2CuI + I_2$$

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \leftrightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

لكن بوجود Fe^{3+} يحدث التفاعل التالي:

$$2Fe^{3+} + 2I^- \leftrightarrow 2Fe^{2+} + I_2$$

ولتجنب حدوث التفاعل تضاف شوارد الفلور.

5 -الفصل المعتمد على الترسيب:

في هذه الطريقة يتم التخلص من المادة المتداخلة عن طريق ترسيبها(تشكل را سب) باستخدام كاشف انتقائي(عامل مرسب)، والعوامل المرسبة إما تكون مرسبات عضوية أو لاعضوية.

1 -المرسبات اللاعضوية : نذكر منها:

- شاردة الهيدروكسيل OH^- حيث ترسب عدد من الأيونات المعدنية مثل الحديد والألمنيوم ولتجنب التداخل بينهما يتم ضبط pH المناسبة لترسيب كل شاردة.
- شاردة الفضة Ag^+ التي تستخدم لترسيب شوارد الهالوجينات وشاردة السيانيد والتيوسيانات.
- النشادر يستخدم لترسيب شوارد الحديد والبلاديوم.
- حمض الآزوت يستخدم لترسيب القصدير.

نورد في الجدول الآتي بعض عوامل الحجب:

Masking Agent	Species Which Can Be Masked
CN^-	Ag, Au, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pd, Pt, Zn
SCN^-	Ag, Cd, Co, Cu, Fe, Ni, Pd, Pt, Zn
NH_3	Ag, Co, Cu, Fe, Pd, Pt
F^-	Al, Co, Cr, Mg, Mn, Sn, Zn
$S_2O_3^{2-}$	Au, Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Pd, Pt, Sb
tartrate	Al, Ba, Bi, Ca, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Pd, Pt, Sb, Sn, Zn
oxalate	Al, Fe, Mg, Mn, Sn
thioglycolic acid	Cu, Fe, Sn

مثال: ترسيب البروتينات:

تكون ذوبانية البروتينات في المحلول مرتبطة:

١ - درجة حموضة الوسط pH

٢ - القوة التأينية للبروتينات

٣ - درجة الحرارة

٤ - الصفات الكهربائية للمذيب

ترسيب البروتينات:

١ - ترسيب باستخدام أملاح المعادن الثقيلة

- تستخدم أملاح الرصاص والنحاس والزئبق والتوتياء وغيرها من المعادن الثقيلة
- تعتبر عملية الترسيب هذه من التفاعلات اللاعكوسية المؤدية إلى تشويه البنية الفراغية الفعالة للبروتين ويفقد بالتالي فعاليته البيولوجية
- إن التفسير الفيزيائي لهذه الظاهرة : هو تمتز شوارد المعدن الثقيل على سطح الجزيئة البروتينية معدلة هكذا شحنتها الكهربائية ، مما يؤدي إلى انعدام التنافر بين الجزيئات البروتينية المتجاورة وبالتالي تكتلها وترسبها . لكن المعقد المتشكل بين البروتين وشوارد المعدن الثقيل الممتز على سطحه يذوب زيادة من الملح المعدني ، نتيجة تغيير في شحنته مما يؤدي إلى التنافر بين الجزيئات البروتينية المتجاورة
- تستعمل تفاعلات ترسيب البروتينات بهذه الطريقة في الاسعافات الاولية عند التسمم بهذه الأملاح من أجل إزالة سميتها ،وذلك بإعطاء المصاب كميات كبيرة من بروتينات البيض أو الحليب

٢- ترسيب بالاعتماد على نقطة التعادل الكهربائي

- نقطة التعادل الكهربائي للبروتينات PI هي قيمة PH الوسط التي لايملك فيها البروتينات أية شحنة كهربائية ، أي أن مجموع الشكن الموجبة يساوي مجموع الشحن السالبة ، وبالتالي لا يتحرك البروتين الموجود في هذه النقطة نحو أي من القطبين إذا ما طبق على محلوله حقل كهربائي

يترسب عندما PI=PH المحلول

- في البروتينات ما عدا كل نهاية تكون جميع الزمر α الأمينية و αالكربوكسيلية مشتركة في الروابط الببتيدية ، لذا فالزمر القابلة للتشرّد في السلاسل الجانبية هي التي تساهم بشكل أساسي في إضفاء الشحنة على الجزيئة الضخمة البروتينية إضافة لزمرة الأمين القلوية والثنائية الكربوكسيل
- عندما تضبط درجة حموضة مزيج بروتيني عند درجة حموضة التساوي الكهربائي لواحد من مكوناته ، فإن مجموع هذا المركب سيترسب تاركاً في المحلول البروتينات الأخرى التي تكون درجة حموضة تعادلها الكهربائي أكبر او أصغر من درجة الحموضة المنتقاة .
- إن البروتينات المترسبة بهذه الطريقة تحتفظ بشكلها الأصلي الفعال بيولوجياً ، ويمكنها أن تذوب من جديد في وسط يمتلك درجة حموضة وتركيز ملحي ملائمين
- تترسب البروتينات بسرعة درجة حموضة التعادل الكهربائي بواسطة إضافة بعض العوامل الساحبة للماء مثل الكحول ، الأسيتون ، الايتر وغيرها .

مثال: عزل واستخلاص بروتين الكازئين عند نقطة التعادل الكهربائي pH=4.6باستخدام واقي خلاتي

٣- ترسيب البروتينات بالتسخين:

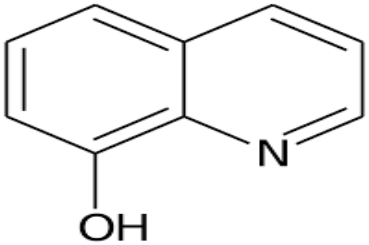
تعد البروتينات مركبات غير ثابتة بالحرارة ، ويؤدي تعريضها للحرارة إلى تغيرات غير عكوسة في خواصها الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية ، ويعرف ذلك بتمسخ البروتينات . يؤدي التسخين إلى تفكيك الروابط الهيدروجينية والروابط الكارهة للماء وبالتالي إلى تخريب البنيتين الثانوية والثالثية للببروتينات دون تأثر البنية الأولية (الناتجة عن الروابط الببتيدية) انطلاقاً من هذا المبدأ تستخدم الحرارة لتخثير البروتينات الطعامية وجعلها أسهل هضماً ، وأيضاً تستخدم الحرارة كعامل تعقيم حيث تقضي على الجراثيم من خلال تمسيخ البروتينات الجرثومية .

4- ترسيب البروتينات بالأملاح المعدنية مثل كبريتات الأمونيوم:

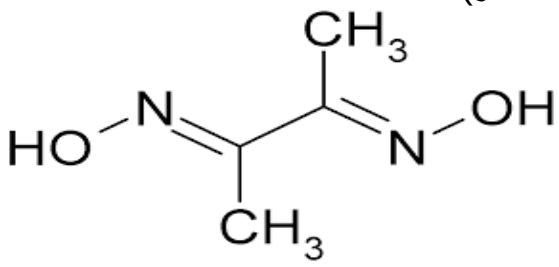
تعتبر كبريتات الأمونيوم من المرسبات القوية للبروتينات أكثر من كلوريد الصوديوم أو كبريتات المغنيزيوم ، عند إضافة كميات مناسبة من الملح إلى محلول البروتين مثل كبريتات الأمونيوم الجاف أو محلوله فيقال حدوث ترسب بالتشبع النصفي بواسطة كبريتات الأمونيوم إذا حدث الترسيب بإضافة حجم من محلول كبريتات الأمونيوم المشبع إلى حجم من محلول البروتين وفي هذه الحالة الراشح لا يعطي اختبار بيوريت لانفصال البروتين على ورق الترشيح

2- المرسبات العضوية :نذكر منها:

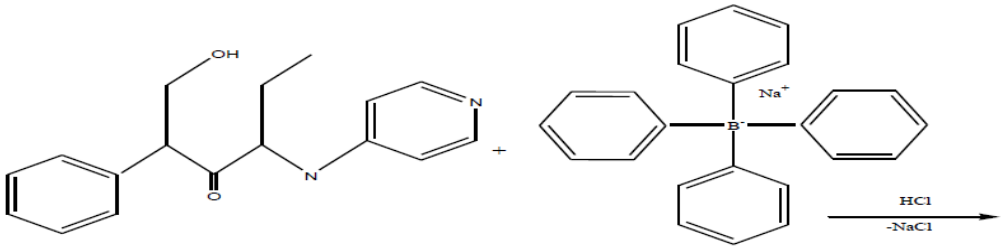
١) 8- **هيدروكسي الكينولين** يشكل مع العديد من الشوارد المعدنية معقدات(على شكل راسب).
حيث تتحقق الانتقائية بضبط pH المحلول.
معقدات هذا المركب وكذلك الحلقة المتغايرة بحد ذاتها تبدي خواص مطهرة، معقمة ومبيدة للحشرات حيث تعمل مثبطات للانتساخ ومضاد للبكتريا.
يستخدم محلوله الكحولي كضمادات سائلة، كان سابقاً ذو أهمية كبيرة كعقار مضاد للسرطان

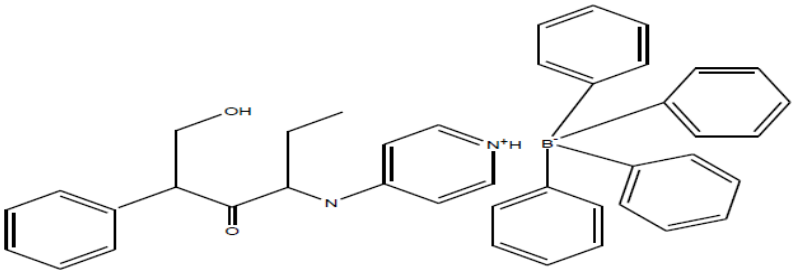


٢) **ثنائي متيل الغليوكسيم**: يعتبر عامل مرسب عضوي انتقائي لشاردة النيكل الثنائي في وسط قلوي ضعيف (يعطي را سب أحمر) .



٣) **رباعي فينيل بورات الصوديوم** $(C_6H_5)_4B^-Na^+$: يشكل رواسب في وسط حمضي وهو عامل انتقائي لأيونات البوتاسيوم، الأمونيوم، الروبيديوم والسيزيوم.
يستخدم هذا الكاشف لتحديد بعض المركبات الدوائية حيث يشكل معها معقدات الزوج الأيوني تكون على شكل رواسب مثل تحديد التروبيكاميد في وسط حمضي من حمض كلور الماء:





الخطوات الأساسية التي يجب القيام بها قبل إجراء عمليات التحليل:

1- اعتيان العينة: يعبر مصطلح الاعتيان عن الطريقة المقترحة لجمع العينة المطلوب تحليلها حيث تجمع عدة أخيذات من أمكنة مختلفة من مزيج المادة المحللة وتنقل للمجانسة.
2- مجانسة العينة: يتم بخلطها بشكل جيد ومناسب باستخدام محرك كهربائي أو هاون من البورسلان.
3- وزن العينة : باستخدام ميزا ن تحليلي دقيق.
4- تحضير العينة للحل : ذلك باختيار المذيب المناسب الذي يحقق نسبة انحلال تامة 100%.
5- إلغاء العوامل المشوشة: حيث تضاف حواجب كيميائية ترسب أو تشكل معقدات ثابتة مع الشوارد أو المركبات المشوشة والتي تؤثر سلباً على عملية التحديد أو يتم ذلك بإلغاء التداخلات الطيفية أثناء إجراء التحليل بالطرائق الآلية.

6- الفصل المعتمد على تجزئة الطورين:

- الاستخلاص
- الكروماتوغرافيا