

République Algérienne Démocratique & Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et



de la Recherche Scientifique  
UNIVERSITÉ Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exactes et Sc.N.V  
Département de Sciences de la matière

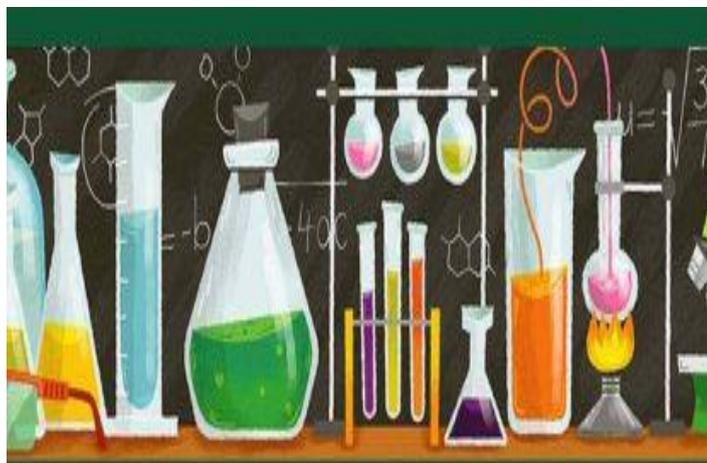


Polycopié de Cours

# Techniques d'analyse physico-chimique 1

Méthodes de séparation

2ième année Licence Chimie



Dr. Chadli Ilham  
Maitre de conférences B

2023/2024





## Sommaire

Titre	Page
Avon Propos	
Chapitre 1 : Généralités sur les méthodes de séparation	1
Chapitre 2 : Les méthodes de séparation Immédiates	5
Chapitre 3 : La Séparation par rupture de phase	11
Chapitre 4 : L'extraction Par solvant	16
Chapitre 5 : L'osmose et la dialyse	24
Chapitre 6 : La chromatographie	31
Chapitre 7 : L'électrophorèse	43
Références	50



## **Avon Propos**

Ce polycopié de cours est réalisé en conformité avec le programme officiel du module "Techniques physicochimiques d'analyse 1". Destiné aux étudiants en deuxième année licence chimie SM, son objectif est de leur fournir un support pour comprendre les méthodes de séparation chimique et physique utilisées en laboratoire pour différents types de mélanges, qu'ils soient homogènes ou hétérogènes, dans le but d'extraire des substances pures spécifiques.

Bien qu'initialement conçu pour les étudiants de deuxième année licence en chimie SM, ce polycopié est accessible aux étudiants de troisième année licence en chimie, de master en chimie SM, ainsi qu'aux étudiants en biologie et en pharmacie, ayant été simplifié pour être compris par des étudiants de tous niveaux universitaires.

Ce polycopié couvre divers sujets relatifs aux méthodes de séparation physico-chimique des mélanges homogènes et hétérogènes. Le premier chapitre aborde les généralités sur les méthodes de séparation, en mettant l'accent sur les méthodes traditionnelles telles que la filtration, la centrifugation et la décantation. Les chapitres suivants se concentrent sur l'étude approfondie de différentes méthodes de séparation spécifiques telles que la séparation par rupture de phase, l'extraction par solvant, la chromatographie, l'osmose et la dialyse, et l'électrophorèse.

Enfin, il est espéré que les leçons simplifiées présentées dans ce polycopié serviront de référence à tout étudiant ou enseignant intéressé par les procédés de séparation en laboratoire, en leur fournissant un outil de travail pratique et efficace.

*Dr. Ilham Chadli*



## Généralités sur les méthodes de séparation

### 1. Introduction

Ces méthodes correspondent à la partie la plus ancienne de la chimie analytique . Elle était déjà connue des *Alchimistes*, qui cherchaient par distillation l'esprit ou l'essence de chaque substance.

Le but du travail dans le laboratoire est :

- La synthèse des produits chimiques
- L'extraction des produits chimiques à partir des sources naturelles.
- L'identification des produits chimiques
- Détermination des concentrations de quelques produits, présent dans le milieu chimique.

### 2. Les méthodes de séparation

Peuvent être classées en deux catégories :

#### A. Séparations macroscopiques

Ces méthodes de séparation permettent de séparer un constituant d'un autre par :

- Filtration,
- Les méthodes impliquant des effets de la température (Distillation, Evaporation et, séchage), la solubilité (extraction par solvant, cristallisation et précipitation), et la dialyse.

#### B. Séparation microscopique

Les plus courantes de ces méthodes sont les méthodes chromatographiques ; exp :

- La chromatographie sur couche minces (CCM)
- La chromatographie gazeuse (CPG)

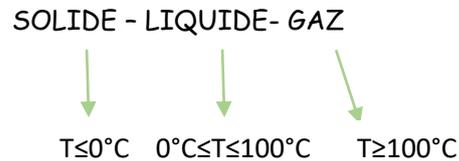
Pour ces méthodes, les quantités d'analyse sont de l'ordre de mg ou  $\mu\text{g}$ .



### 3. Les états de la matière

Toute la matière qui nous entoure (sol, l'eau, le corps humain ...) est constituée d'un assemblage de tout petits éléments que l'on appelle des molécules. Prenons comme exemple l'eau ( $H_2O$ ).

-L'eau ( $H_2O$ ) peut exister sous trois formes :



### 4. Les Corps chimiques

#### A. Les corps purs

Chaque substance constituée d'une seule espèce chimique, est un corps pur.

✚ Corps pur simple : est une espèce chimique constituée d'un seul type d'atome  
(Exp :  $O_2$ ,  $H_2$ ,  $N_2$ ,  $Fe...$ ).

✚ Corps pur Composé : une espèce chimique constituée de différents atomes  
(Exp :  $H_2O$ ,  $CO_2$ ,  $H_2SO_4$ ).

#### B. Le Mélange

présente plusieurs éléments chimiques coexistent (Exemple : l'eau potable =  $H_2O$  + minéraux lo :  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^{+..}$ ).

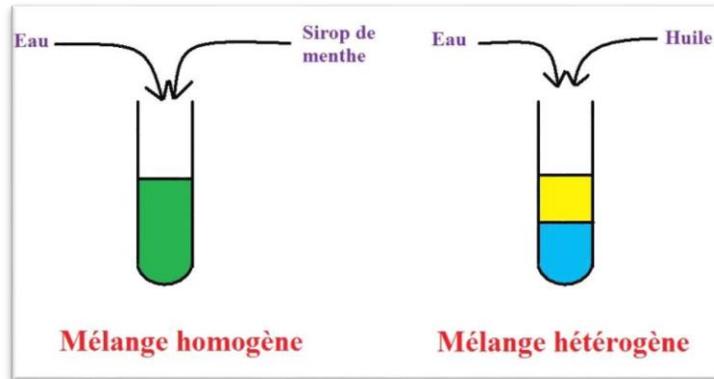
✚ Mélange homogène

Est un mélange dont, on ne peut voir les différents constituants à l'œil nu, après agitation  
(Exp : Sirop de menthe + eau), car le Sirop de menthe est soluble dans l'eau.

✚ Mélange hétérogène

Présence de plusieurs phases visibles. (Exp : eau+ huile), car l'huile est insoluble dans l'eau.





## 5. Principe de la séparation

Pour séparer les différents composants d'un mélange, on utilise les différences de *propriétés physico-chimiques* entre le composé intéressant, et le reste du mélange. Plus la différence de propriétés est grande, et plus la séparation sera facile.

On peut finalement classer les méthodes de séparation dans deux grandes catégories, les séparations mécaniques et, les séparations par diffusion.

### A. Séparations mécaniques

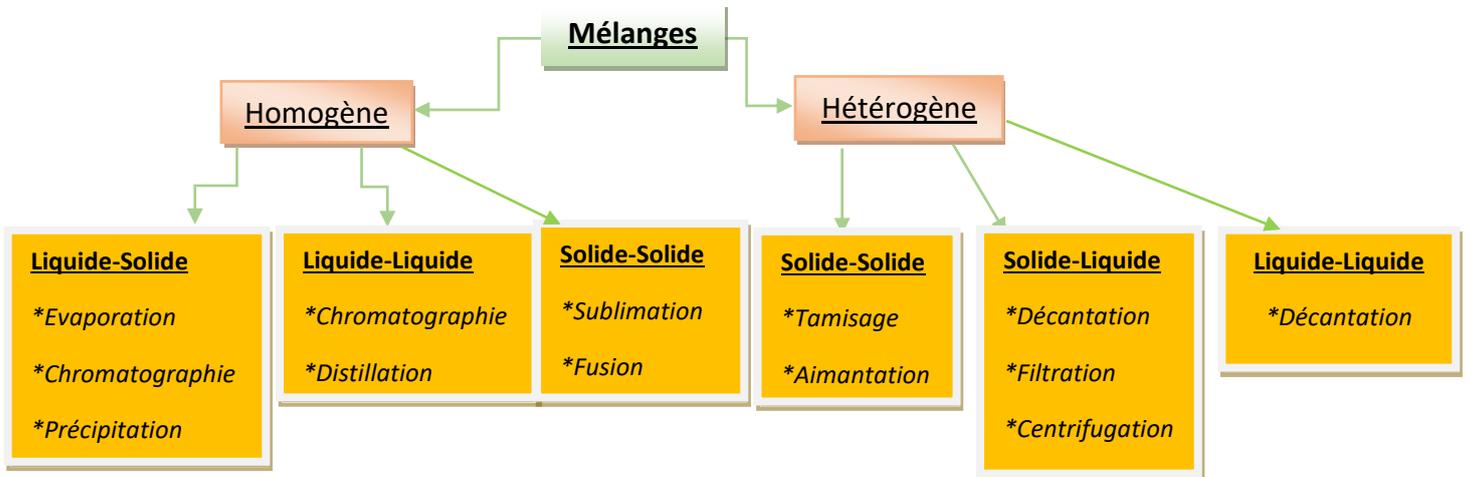
- 1) La sédimentation
- 2) La filtration
- 3) La centrifugation
- 4) La décantation

### B. Séparations par diffusion

- 1) La distillation
- 2) La sublimation
- 3) L'évaporation
- 4) La chromatographie



Distribution des mélanges et méthodes de séparation



## Les méthodes de séparation Immédiates

### 1. Introduction

La séparation de divers constituants des mélanges, qu'ils soient homogènes ou hétérogènes, demande l'application de diverses techniques de séparation immédiates telles que la filtration, la décantation, et la centrifugation. Ces méthodes de séparation sont privilégiées en laboratoire ou en industrie lorsque la séparation doit être réalisée rapidement, évitant ainsi des procédures plus longues et coûteuses.

### 2. La filtration

#### 2.1 -Principe

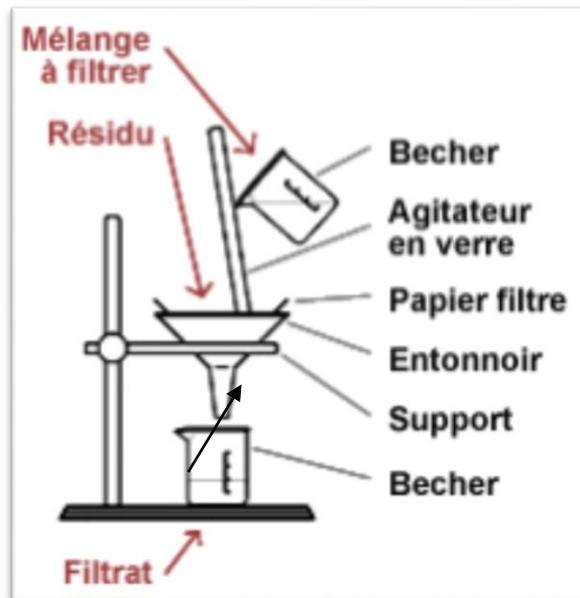
La filtration sert à séparer un mélange hétérogène (liquide-solide). Le principe de cette méthode repose sur la granulation des composants (dimension des particules).

Le papier filtre avec plusieurs multitudes de pores minuscules agit comme un tamis. Il y'a deux méthodes.

#### 2.2-Filtration Simple

D'abord, le papier filtre rond plié deux fois, afin d'obtenir un quart de disque. Puis on ouvre le filtre plié afin d'obtenir un petit entonnoir en papier.

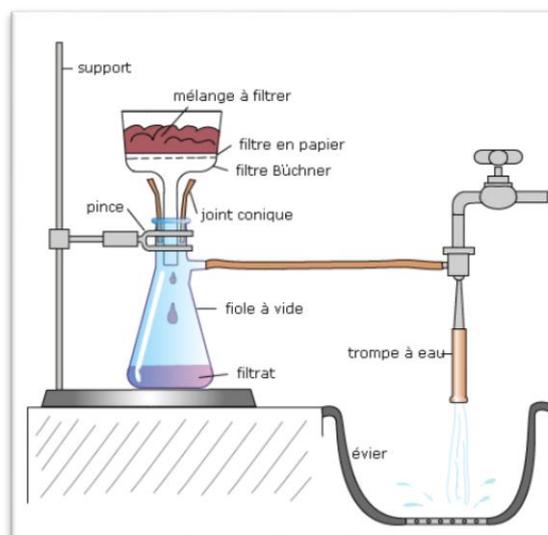
- ✚ Celui-ci, est placé dans le grand entonnoir en verre.
- ✚ Ensuite, verser lentement le contenu du bécher dans le papier filtre. La phase liquide est appelée filtrat.



### 2.3-Filtration sur Büchner

La filtration se réalise sur Büchner, entonnoir à fond plat performé (troué), que l'on recouvre d'un filtre. Le Büchner est placé sur une fiole à vide reliée à une trompe à eau.

- ✚ Après avoir légèrement humidifié, on place le papier filtre dans le Büchner.
- ✚ On met en route la trompe à eau, en ouvrant le robinet d'eau.
- ✚ On verse le contenu du Bécher lentement dans le Büchner.
- ✚ A la fin de la filtration, on doit débrancher le tuyau en caoutchouc, puis on ferme le robinet.



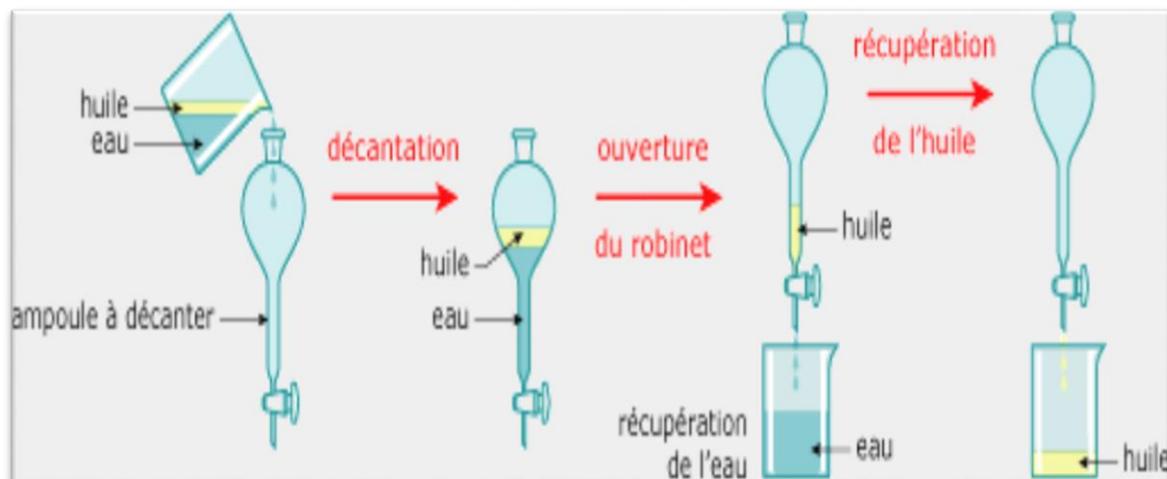
**✚ Remarque**

La trompe à eau crée une dépression dans la fiole à vide. Le mélange à filtrer est alors, aspiré au travers du papier filtre.

### 3. La décantation

La décantation est une technique de séparation mécanique sous l'action de la gravitation de plusieurs phases non-miscibles, dont l'une au moins est liquide.

On peut ainsi séparer plusieurs liquides non-miscibles de densités différentes.



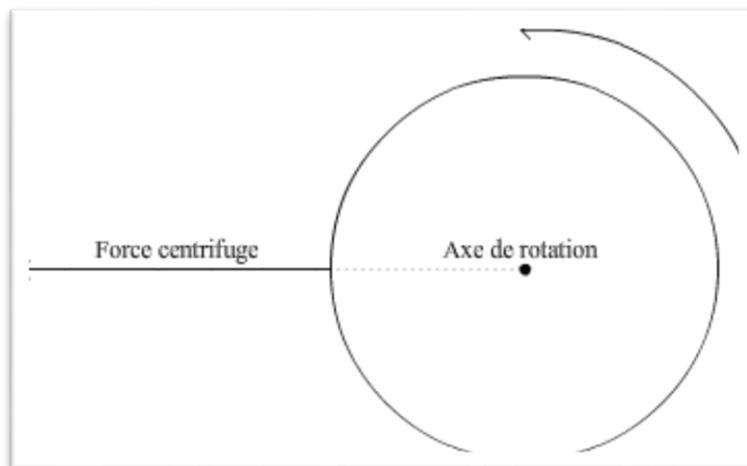
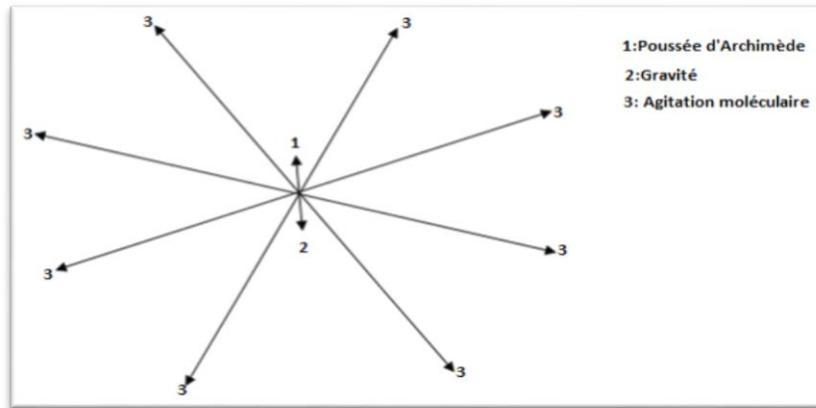
### 4. La centrifugation

#### 4.1 -Principe

La centrifugation permet de séparer des constituants de taille et de masse très variables contenus dans un liquide.

Tous les constituants contenus dans un échantillon sont soumis à la gravité, force(2) qui s'exerce du haut vers le bas, et à la poussée d'Archimède, force(1) qui s'exerce du bas vers le haut. En dehors du cas particulier dans lequel ces deux forces sont parfaitement équilibrées, on pourrait donc s'attendre qu'avec le temps tous les constituants finissent par tomber au fond du récipient dans lequel ils se trouvent (sédimentation) ou remontent à la surface. En faisant tourner

l'échantillon, on fait apparaître une nouvelle force, la force centrifuge(3), qui est une accélération qui s'exerce radialement vers l'extérieur de l'axe de rotation.



#### 4.2-Calcul de la force gravitationnelle relative (FGR, ou RCF)

Dans une centrifugation, il faut connaître la force relative de centrifugation (force de gravité relative, FGR, accélération) en "x g". Cependant pour une vitesse de rotation donnée, chaque rotor a une FGR différente puisque le rayon de rotation est différent. Il faut donc être capable de convertir la vitesse de rotation (RPM, rotations par minute) en FGR. Pour cela on peut se servir d'un nomogramme ou de la formule mathématique de conversion. Celle-ci est :

$$a = 1.119 \cdot 10^{-5} \times r \times n^2$$

Avec :

$r$  : distance à l'axe de rotation (cm)

$n$  : nombre de rotations par minute (RPM);

#### 4.3-Force centrifuge

Lorsqu'une masse  $m$  tourne autour d'un point fixe, elle subit une force centrifuge  $F$  :

$$F = m \cdot a$$

$$a = w^2 \cdot r$$

$$w = n(2\pi)$$

Lorsque la force centrifuge est appliquée à une particule solide ou liquide en suspension dans un liquide, la masse  $m$  devient :

$$m = V(d_s - d_l)$$

où  $V$  et  $d_s$  sont respectivement le volume et la densité de la particule, et  $d_l$  la densité du liquide la valeur de la force centrifuge devient alors :

$$F = 4\pi^2 n^2 r V(d_s - d_l)$$

L'efficacité d'une centrifugation dépend ainsi

- Du volume des particules ;
- De la différence de densités : les particules les plus grosses et les plus lourdes sédimentent plus vite

#### 4.4- Le matériel

Une centrifugeuse est une machine équipée d'un axe de rotation enfermé dans une enceinte. Excepté pour les centrifugeuses de paillasse dont la vitesse de rotation et le temps typique d'utilisation sont relativement limités, il est nécessaire d'empêcher l'échauffement des échantillons. Pour cela, l'enceinte est réfrigérée et souvent soumise à un vide poussé pour éviter les frottements. Par ailleurs, un rotor qui tourne à haute vitesse (jusqu'à 100 000 rpm) possède beaucoup d'énergie cinétique. Potentiellement, il peut donc faire beaucoup de dégâts en cas de problème. C'est pourquoi l'enceinte de la centrifugeuse est blindée.

Le rotor qui supporte les tubes contenant les échantillons doit à la fois être suffisamment solide pour supporter les forces qui s'exercent sur lui, et le plus léger possible. Le meilleur matériau

actuel est le titane, avec son excellent rapport (poids/résistance), d'autant qu'il est également non-magnétique. Le seul inconvénient est son prix élevé.



#### 4.5- Manipulation : Equilibrage des tubes

Les tubes doivent être disposés dans le rotor de façon à éviter tout déséquilibre. Ainsi le poids des tubes qui se font face dans le rotor doit être identique.

Si le nombre de tubes à centrifuger est impair, on placera en face du tube unique un tube contenant le volume d'eau nécessaire pour obtenir un poids unique.

**Exemple :** Un rotor a un rayon de rotation maximal de 10 cm. A quelle vitesse faudra-t-il le faire tourner pour obtenir une accélération (FCR) de 100 000 g ?

D'après la formule :

$$a = 1.119 \cdot 10^{-5} \cdot r \cdot n^2$$

$$n = 29\,894 \text{ (RPM)}$$

Quelle est la force centrifuge relative (RCF) en g ( $m/s^2$ ) pour un rotor ayant un rayon de rotation de 10 cm et une vitesse de rotation de 4000 tours par minute (RPM) ?

**Rp:**

$$a = w^2 \cdot r = 1,119 \cdot 10^{-5} \cdot r \cdot n^2$$

$$a = 1,119 \cdot 10^{-5} \cdot 10 \cdot (4000)^2$$

$$a = 1790,4 \text{ g (m/s}^2\text{)}$$

## Séparation par rupture de phase

### 1. Cas d'une solution liquide

Dans ce cas, la séparation par rupture de phase sert à éliminer le solvant ou diminuer le pouvoir solvant dans une solution, pour la récupération d'un soluté soluble dans le solvant.

#### A- Séparation par élimination du solvant

Pour éliminer le solvant d'un mélange (solvant + solutés) on utilise un appareil couramment utilisé appelé « L'évaporateur rotatif » ou souvent "Rotavapor".

##### + Description du montage

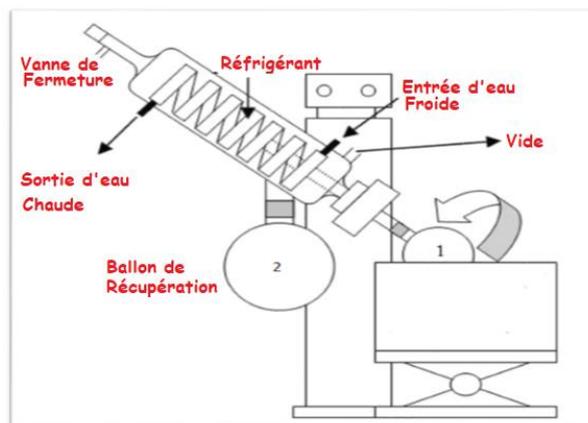
Le mélange (solvant + soluté) est placé dans le ballon (1), celui-ci est plongé dans un bain-marie. Il est incliné et animé d'un mouvement de rotation de manière à créer un film de liquide et ainsi accroître la surface d'évaporation du solvant. Après la condensation dans le réfrigérant, le solvant est récupéré dans le Ballon (2).

#### B- Diminution du pouvoir solvant

Elle peut être réalisée par différentes manières.

##### B.1 - Variation de la température

Il correspond à la technique de recristallisation ; dissolution à chaud suivi d'un lent retour à la température ordinaire, entraîne l'apparition de cristaux



#### But de la recristallisation

La recristallisation, a pour but de purifier un produit en le séparant des impuretés qu'ils pourraient contenir.

#### Principe de la recristallisation

La purification des solides par recristallisation est basée sur leurs différences de solubilité dans un solvant choisis. Le solvant dans recristallisation idéal est celui pour le quelle le produit à recristallisation est soluble à chaud et insoluble à froid et les impuretés sont soluble aussi bien à chaud et à froid.

#### Choix du solvant

Les solvants les plus usuellement utilisés sont : le cyclohexane ; l'alcool méthylique, l'alcool Ethylique ; l'eau ; le chloroforme ; le dichlorométhane ; ou un mélange de ceux-ci, on fait des essais systématiques :

- Dans un tube à essai on a placé quelques cristaux et environ 1 ml de l'un des solvants indiqués ci-dessus.
- Si le composé se dissout → le solvant est surement sans valeur .s'il ne dissout pas → le tube est alors chauffé doucement, Alors le composé se solubilise partiellement.
- On ajoute quelque gouttes supplémentaires du solvant afin d'obtenir une dissolution totale. Si une solution homogène est obtenue, on refroidit le tube.
- Si le choix du solvant est correct ; on doit observer les cristaux. Si aucune solubilité n'est noté ou aucun cristal n'est obtenu →le solvant n'est pas apporté, et on essaye un autre, jusqu'à l'obtention de cristaux.

#### Technique opératoire de recristallisation

Le solvant apporté ayant été choisi :

- 1- On met le composé à purifier dans un Ballon surmonté d'un réfrigérant ; et le dissoudre dans le minimum de solvant, à température d'ébullition.
- 2- On peut filtrer la solution chaude pour éliminer certaines impuretés insolubles.
- 3- On laisse refroidir la solution.



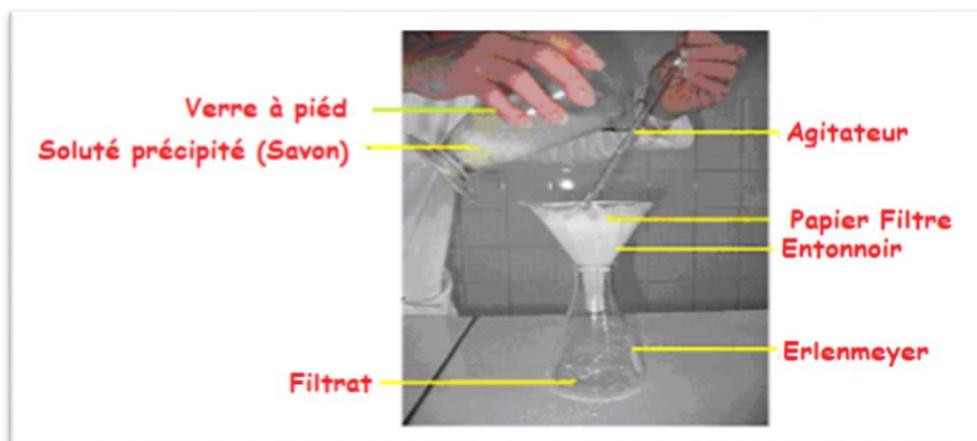
- 4- On filtre les cristaux sur entonnoir de Büchner pour les séparer de la liqueur mère. On lave avec de petites quantités du même solvant froid.
- 5- On essore très soigneusement sur entonnoir de Büchner.

### B.2-Addition d'un non solvant

L'apport d'un seconde liquide miscible au premier solvant, dont n'ayant aucun pouvoir de dissolution vis-à-vis, telle ou telle substance existant dans la solution initiale, peut entrainer une précipitation.

### B.3- Le relargage

Le relargage est une technique qui consiste à séparer une substance ou solution dans son solvant, en introduisant une autre substance plus soluble qui prend sa place.



✚ *But du relargage*

Le but du relargage est l'amélioration de la récupération d'un produit (**A**) soluble dans le solvant (**1**).

✚ *Principe du relargage*

Diminuer la solubilité de (**A**), dans le solvant (**1**) par la saturation en sel (chlorure de sodium NaCl généralement).

✚ *Technique opératoire*

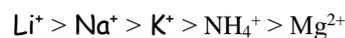
On ajoute au mélange (**A** + solvant (**1**)), du sel (exp : NaCl), et on agite de façon à dissoudre le maximum de NaCl dans le solvant (**1**), et la saturation en sel, alors on obtient un précipité du produit **A**, car ce dernier doit être moins soluble dans l'eau salée.

✚ *Remarques*

- (**A**) peut être un liquide, et le relargage doit être complété par une décantation liquide-liquide.
- (**A**) peut être un solide, et le relargage doit être suivie par une filtration (exp : Préparation d'un savon).

✚ *Le pouvoir relargant*

Puisque le relargant est un sel minéral, le pouvoir relargant décroissant peut être présenté selon la série de Hofmeister :  $F^- > SO_4^{2-} > Citrate > tartrate > Cl^- > Br^-$



✚ *Avantage du relargage*

Méthode de séparation très douce qui ne fait pas intervenir l'élévation de température, et pour cela, présente un grand intérêt en biochimie surtout.

## 2. Cas d'un mélange solide

C'est le plus difficile à séparer de cette manière, où il devient nécessaire d'utiliser une méthode de transfert de phase avant la séparation. On peut utiliser parfois : la séparation mécanique des cristaux selon leur couleur, leur fluorescence (Luminescence), ou leur forme. On peut utiliser



aussi, le procédé appelé « Lévigation » qui est l'entraînement par un courant de liquide non solvant, des fractions les moins denses d'un mélange, cette méthode de séparation est fondée sur la différence de densité des différents constituants.

**A- Séparation Mécanique**

- ✚ La séparation mécanique des cristaux se fait selon leurs couleurs, les fluorescences, leurs formes...
- ✚ La séparation des minerais se fait selon différentes propriétés telles que : le clivage, la fracture, la dureté, la densité...

**B- Séparation Mécanique par densité**

- ✚ Lévigation : est une technique industrielle, sert à réduire les particules les moins denses, en une poudre impalpable après broyage, avec dispersion dans l'eau ou dans un liquide non solvant, d'où elles peuvent être extraites après décantation et filtration.
- ✚ Orpillage (chercheurs d'Or)
- ✚ Mouillage : sert à la séparation des particules solides par différence de tension superficielle
- ✚ Flottation : sert à la séparation des particules solides à l'aide de différences de densités.

**C- Séparation à l'aide des propriétés particulières**

Plus les techniques mécaniques de séparation, il y a d'autres techniques de séparation telles que :

- Séparation magnétique
- Séparation électrique
- Séparation par tamisage en fonction des tailles des particules.



## L'extraction Par solvant

### 1. Introduction

Il existe différents types d'espèces chimiques, Les espèces chimiques naturelles présentes dans la nature et, les espèces chimiques synthétisées ou fabriquées au laboratoire.

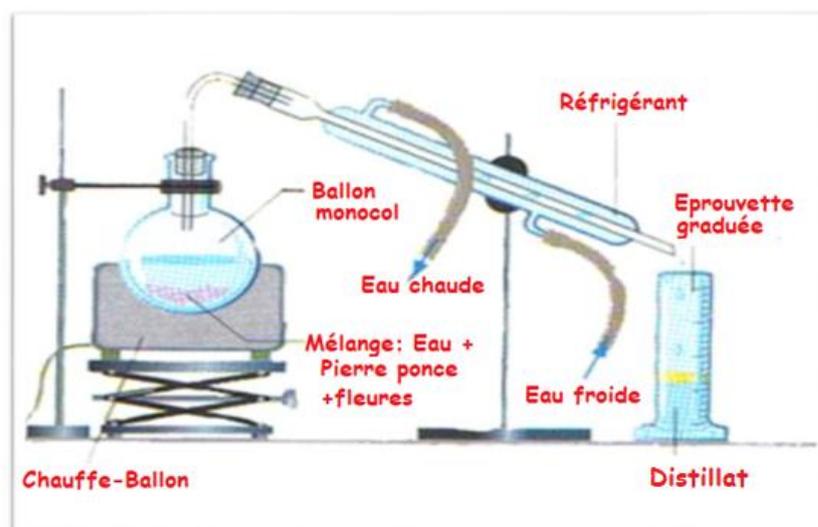
### 2. Extraction des espèces chimiques

La nature, notamment les végétaux, sont une source de remède. Un végétal contient plusieurs milliers d'espèces chimiques. Le chimiste doit avoir extraire et isoler ces espèces chimiques, afin de les analyser et les utiliser, comme principes actifs d'un médicament.

### 3. Extraction des espèces chimiques naturelles

#### A- Hydrodistillation

Une espèce chimique (huile essentielle) extraite par hydrodistillation d'un produit naturel (feuille, écorce, fleurs, fruits) peut être extraite par un autre solvant extracteur si la solubilité de cette espèce chimique est grande dans ce solvant. L'hydrodistillation est une méthode d'extraction utilisée principalement pour extraire des composés volatils, tels que des huiles essentielles, à partir de matières végétales.



Contrairement à l'extraction solide-liquide classique, qui utilise souvent des solvants organiques, l'hydrodistillation utilise de la vapeur d'eau comme solvant. Voici comment fonctionne le processus d'hydrodistillation :

1. Les matières végétales sont placées dans un appareil appelé alambic ou encore dans un système de distillation adapté pour permettre le passage de la vapeur d'eau.
2. La vapeur d'eau est ensuite introduite dans l'alambic où elle traverse les matières végétales.
3. La vapeur d'eau chauffée à travers les matières végétales entraîne les composés volatils avec elle.
4. La vapeur d'eau chargée des composés volatils est ensuite refroidie, ce qui provoque la condensation et la séparation des phases liquide et d'huile.
5. L'huile essentielle est collectée, généralement flottant à la surface de l'eau condensée, et peut être séparée de l'eau par décantation ou par des moyens mécaniques.

L'hydrodistillation est une méthode utilisée depuis des siècles pour extraire des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques telles que la lavande, la menthe, le romarin, etc. Elle est appréciée pour sa simplicité et son caractère écologique, car elle n'utilise aucun solvant chimique.

### **B-Infusion**

De l'eau bouillante est versée sur les feuilles ou sur les fleurs finement hachées, de plantes.



***C-Décoction***

La plante est mise dans l'eau froide porter à l'ébullition quelques temps. Cette méthode est adaptée aux racines, et écorces, pour lesquelles l'extraction est difficile.



***D-Macération***

Est un procédé qui consiste à laisser séjourner un solide dans un solvant froid pour en extraire les composés solubles.



 **Remarques**

Tout médicament se compose de deux types de substances.

- Une ou plusieurs substances actives (principes actifs) : espèces chimiques assurant l'effet thérapeutique recherché. Ce principe actif est connu sa dénomination internationale (DCI).
- Des excipients : substances sans intérêt thérapeutique, mais incorporées aux médicaments pour en faciliter l'administration, la conservation ou l'absorption.
- Les espèces chimiques composantes le médicament peuvent être naturelles ou synthétisés au laboratoire.

#### 4. Extraction par solvant non miscible

L'extraction par solvant non miscible est une technique utilisée pour séparer des composés d'une solution en les transférant d'une phase liquide à une autre. Cette méthode est souvent employée en chimie organique et en chimie analytique.

 **Principe**

L'extraction par solvant non miscible ou extraction liquide-liquide, est une technique de séparation basée sur la différence de solubilité des composés dans deux phases liquides non miscibles.

L'extraction d'un soluté « S », d'un solvant « A » par un autre solvant « B » non miscible au premier dite extraction liquide-liquide.

#### 5. Choix du solvant extracteur

Le solvant extracteur est choisi de telle sorte que :

1. L'espèce chimique à extraire y soit « le plus soluble possible ».
2. Le solvant doit être non-miscible au premier solvant
3. Le solvant soit volatil (température d'ébullition faible).
4. Le solvant ne doit pas réagir avec l'espèce chimique.
5. Le solvant doit être le moins nocif possible.



## 6. Paramètres influençant l'extraction liquide-liquide

Deux paramètres sont importants lors d'une extraction liquide-liquide sont : le coefficient de partage, et le taux de distribution.

➤ *Le coefficient de partage*

La plus part des extractions consiste à extraire un soluté d'un solvant aqueux (noté A) par un solvant organique (noté B).

Le coefficient de partage « k » est le rapport des concentrations de la substance « S » dans les deux phases à l'équilibre :

$$K = \frac{C_B}{C_A}$$

Le coefficient de partage « K » dépend aussi des coefficients de solubilité « $S_A$  et  $S_B$  » de la substance « S » dans les deux solvants « A » et « B » dans le cas où les solvants ne sont pas parfaitement non-miscibles. On a donc :

$$K = \frac{S_B}{S_A}$$

➤ *Le taux de distribution*

Le taux de distribution « D » est le rapport entre les concentrations totales de la substance « S » dans « A » et « B » dans le cas où les solvants ne sont pas parfaitement non-miscibles. On a donc :

$$D = \frac{\sum C_B}{\sum C_A}$$

Avec :

$$\sum C_A = [\text{forme initiale}]_A + [\text{forme modifiée}]_A$$

$$\sum C_B = [\text{forme initiale}]_B + [\text{forme modifiée}]_B$$

Le taux de distribution est utilisé notamment lorsque le soluté peut exister sous plusieurs formes chimiques.



Exemples : la substance « S » se trouve sous forme acide dans le solvant « A » et, sous forme basique dans le solvant « B ». on a alors :

$$D = \frac{[R-COOH]_B + [RCOO^-]_B}{[R-COOH]_A}$$

Dans le cas idéal où, le soluté se trouve sous la même forme dans les deux solvants :

$$D=K$$

➤ *Le rendement d'extraction*

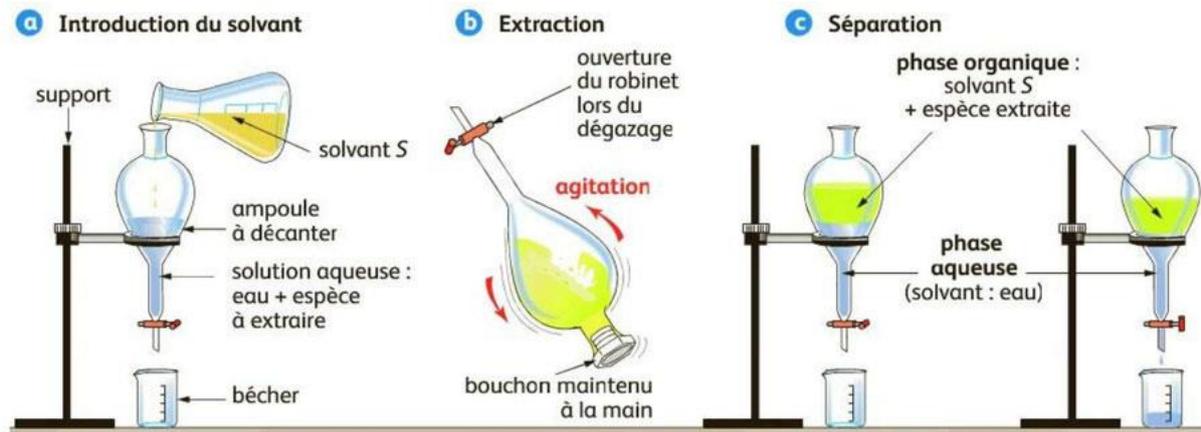
Le rendement d'extraction « R » est le rapport entre la quantité maximale de substance extraite par le solvant B «  $Q_B$  », et la quantité initiale en solution dans le solvant A «  $Q_{0A}$  »

$$R = \frac{Q_B}{Q_{0A}}$$

## 7. Description générale de l'extraction Liquide-liquide

Pour l'extraction d'un produit du premier solvant(S1), un solvant adapté (S2) doit donc être identifié. La première étape d'un processus d'extraction correspond au mélange par contact intensif des deux phases liquides pour permettre un transfert de masse du produit. La seconde étape correspond à la phase de séparation ou de stabilisation des 2 phases liquides. Pour récupérer le produit, le solvant doit être séparé du produit lors d'une troisième étape qui correspond essentiellement à la vaporisation.





## 8. Différents solvants extracteurs utilisés

L'extraction des espèces chimiques au laboratoire, peut utiliser une variété de solvants en fonction des propriétés chimiques des composants à extraire et des exigences du processus. Voici quelques exemples courants de solvants utilisés dans ce type d'extraction :

1. Eau : L'eau est l'un des solvants les plus couramment utilisés en raison de sa disponibilité, de son faible coût et de sa capacité à dissoudre de nombreux composés organiques et inorganiques.
2. Éthanol : L'éthanol est souvent utilisé comme solvant dans les extraits à base de plantes, les teintures et les produits pharmaceutiques en raison de sa capacité à dissoudre une large gamme de composés organiques.
3. Acétone : L'acétone est un solvant couramment utilisé pour extraire des composés organiques dans divers processus de laboratoire et industriels en raison de sa capacité à dissoudre de nombreux solides organiques.
4. Méthanol : Le méthanol est parfois utilisé comme solvant dans l'extraction, en particulier dans les processus de purification ou de concentration, bien qu'il présente des risques pour la santé et soit souvent remplacé par des solvants moins toxiques.



5. Chloroforme : Le chloroforme était auparavant largement utilisé comme solvant dans l'extraction, mais en raison de ses effets nocifs sur la santé et sur l'environnement, il est de moins en moins utilisé et est souvent remplacé par d'autres solvants plus sûrs.

6. Hexane : L'hexane est un solvant couramment utilisé dans l'industrie alimentaire pour extraire des huiles à partir de graines et de plantes oléagineuses.

7. Dichlorométhane (DCM) : Bien que toxique, le dichlorométhane est parfois utilisé comme solvant dans certaines applications d'extraction en raison de sa capacité à dissoudre une large gamme de composés organiques.

8. Le cyclohexane est un solvant organique couramment utilisé en chimie. C'est un liquide incolore avec une légère odeur caractéristique. Il est souvent utilisé dans les laboratoires de chimie pour des extractions, des purifications, des cristallisations et d'autres procédés. Il est généralement considéré comme un solvant sûr, mais comme avec tout produit chimique, il convient de prendre des précautions lors de sa manipulation et de son utilisation.

Le tableau Ci-dessous montre les propriétés physiques les plus significatives de ces solvants :

	T <sub>f</sub> (°C)	T <sub>eb</sub> (°C)	Masse volumique (g/cm <sup>3</sup> )
L'eau	0	100	1
L'éthanol	-114.1	78.37	0.789
L'acétone	-95	56	0.7898
Le méthanol	-98	65	0.791
Le chloroforme	-63.5	61.2	1.49
L'hexane	-95.3	68.73	0.6594
Le Dichlorométhane (DCM)	-96.7	39.6	1.33
Le cyclohexane	6.47	80.75	0.7786



## L'osmose et la dialyse

### 1. Introduction

Pour réaliser un transfert de phase entre une solution initiale et un second solvant, il faut qu'il y ait possibilité de séparer les deux phases.

Si les deux solvants ne sont pas miscibles, il n'y a pas de problème de séparation. Mais si le second solvant est miscible à la solution, il faut réaliser une séparation entre les deux à l'aide d'une membrane poreuse, choisie pour laisser passer le solvant ou éventuellement le soluté ; c'est le phénomène d'osmose

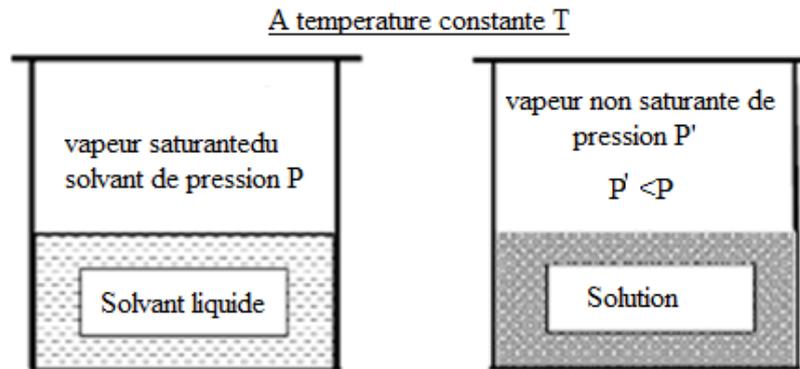
- Si les molécules de solvant pur passent à travers la membrane poreuse et le volume de la solution augmente : c'est le phénomène d'endosmose
- Si les pores de la paroi sont suffisamment larges pour laisser passer les molécules de soluté, celles-ci passent à leur tour dans le solvant pur et ceci jusqu'à égalisation des concentrations : c'est le phénomène d'exosmose

### 2. Solution idéale et loi de Raoult

A une température donnée tout liquide pur est en équilibre avec sa phase vapeur.

Alors, on peut dire qu'au niveau moléculaire: la dissolution d'un soluté "B" dans le liquide, diminue la vitesse de vaporisation du solvant "A" car la présence d'un second constituant réduit la fréquence à laquelle les molécules de "A" quittent la surface.





### 3. Loi de Raoult

La pression de vapeur du solvant "A" dans un mélange est proportionnelle à sa fraction molaire dans le mélange:

$$P_{\text{solvant}} = X_{\text{solvant}} \times P^{\circ}_{\text{solvant}}$$

#### ✚ Remarque

Les mélanges qui obéissent à la loi de Raoult pour toutes les compositions sont des solutions idéales.

### 4. Osmolarité

L'osmolarité (os) d'une solution comme la concentration molaire totale des particules de soluté dissoute, donc :

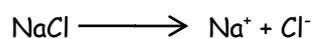
$$OS = i \times C$$

**i**: coefficient de van't Hauff.

**C**: Concentration molaire du soluté.

- Particules non - dissociées  $\longrightarrow i = 1$ .
- Particules dissociées  $\longrightarrow i = n$ .

**Exemple** : une solution de 0.1 M de (NaCl) possède une osmolarité  $OS = ?$

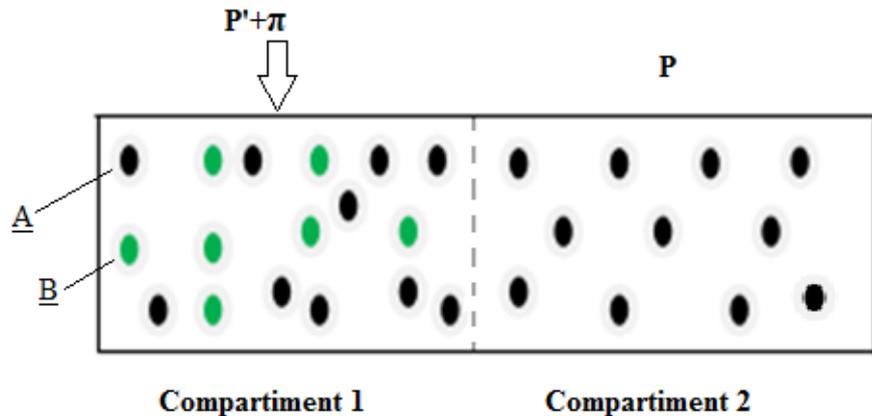


Donc :  $OS = 2 \times 0.1 = 0.2M$ .



### 5. Osmose est la pression osmotique

L'osmose correspond au passage d'un solvant "A" à travers une membrane semi- perméable. Une membrane est perméable au solvant mais imperméable aux solutés dissous (ions, macromolécules...).



La présence de soluté "B" dans le compartiment (1) diminue la pression du solvant contre la membrane, et l'excès de pression dans (2) tend à faire diffuser le solvant "A" de (2) → (1).

Afin d'empêcher une telle migration, on doit fournir une pression supplémentaire "π" appelée "pression osmotique" sur le compartiment (1) qui est donnée par la loi de van't Hauff:

$$\pi = i C_B \times R \times T \times 1000$$

- $C_B$ : concentration de soluté en (mol/l).
- Le facteur 1000, pour la conversation: L → m<sup>3</sup> pour obtenir la pression en pascal
- $R$ : constante des gaz parfait (8.31J/ mol.k)
- $\pi$ : pression osmotique en pascal (pa).

Exemple: quelle est la pression osmotique développé par rapport à l'eau pure pour une solution aqueuse de glucose (0.01 M à 25°C).

$$\pi = 1 \times 0.01 \times 8.32 \times 1000 \times 298.$$

$$\pi = 2.48 \times 10^4 \text{ pa}$$

$$1 \text{ atm} \longrightarrow 101325 \text{ pa.}$$

$$\pi \longrightarrow 2.48 \times 10^4 \text{ pa.}$$

Donc :  $\pi = 0.24 \text{ atm.}$



**Conclusion**

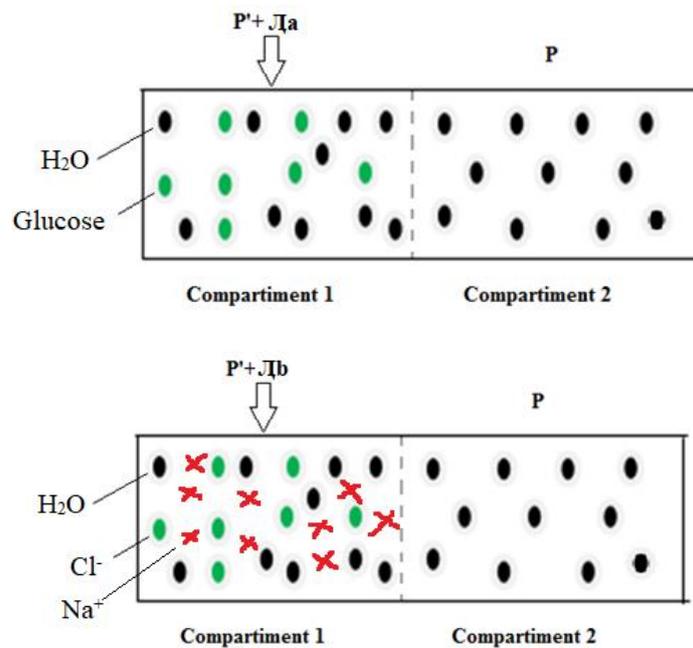
L'eau pure tend à diffuser dans le compartiment contenant de glucose pour rétablir l'équilibre des pressions, il faut appliquer une pression supplémentaire:

$$\pi_{\text{glucose}} = 0.24 \text{ atm, sur le compartiment (1).}$$

La solution du glucose est dite « hypertonique » par rapport à l'eau pure qui est dite « hypotonique » par rapport à la solution de glucose.

**6. Différence de pression osmotique entre deux solutions**

On calcule la pression osmotique entre une solution de glucose (0.01M) et une solution de NaCl(0.01M) à 25°C. On calcule d'abord les pressions osmotiques  $\pi_a$  et  $\pi_b$  de chaque compartiment par rapport à l'eau pure puis on effectue la différence des deux pressions. H<sub>2</sub>O



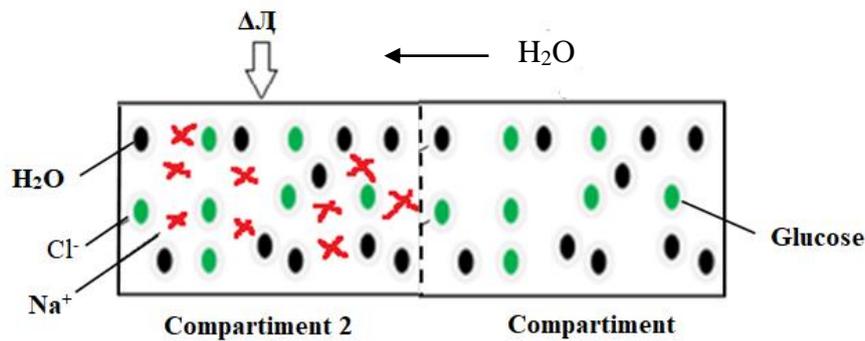
Donc pour :

$$-0.01M(\text{glucose}) : \pi_a = i.C.R.T.1000 = 2,48.10^4 \text{ Pa}$$

$$-0.01M(\text{NaCl}) : \pi_b = i.C.R.T.1000 = 4,96. 10^4 \text{ Pa}$$

$$\Delta\pi = \pi_b - \pi_a = 2.4810^4 \text{ Pa} ; \quad \pi_b > \pi_a$$





La solution de (NaCl) est *hypertonique* par rapport à la solution de glucose, et l'eau tend à migrer du glucose (*Hypotonique 1*) vers le compartiment (*Hypertonique (NaCl) 2*).

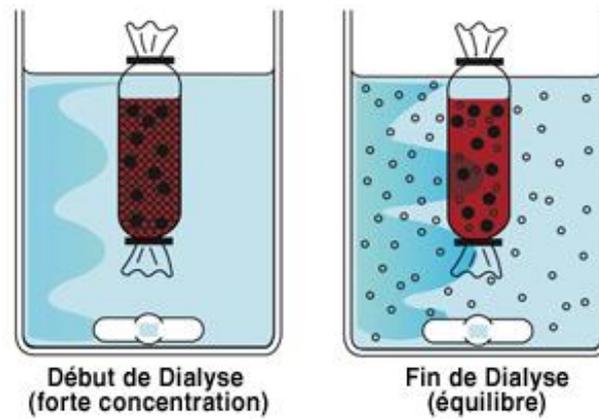
On doit donc appliquer une pression ( $\Delta\pi$ ) sur le compartiment 2(NaCl), pour empêcher la migration du solvant.

Pour une solution contenant plusieurs solutés :  $\pi = C.R.T.1000. \sum_{i,j}.C_j$

## 7. La dialyse

La dialyse est une technique de purification de solutions. C'est une technique d'épuration du sang à travers une membrane. Le principe consiste à séparer deux solutions par une membrane semi-perméable poreuse (pores de diamètres, de l'ordre du micromètre, identiques et connus), se présentant le plus souvent sous la forme d'un boudin de dialyse. Par effet d'osmose et d'agitation moléculaire les cristaalloïdes traverseront la membrane, tandis que les grosses molécules ou macromolécules (comme les protéines et les enzymes...) seront retenues dans le boudin de dialyse. Ce système peut être automatisé sous la forme d'appareils de dialyse notamment dans le domaine médical pour les personnes souffrant de dysfonctionnements rénaux.



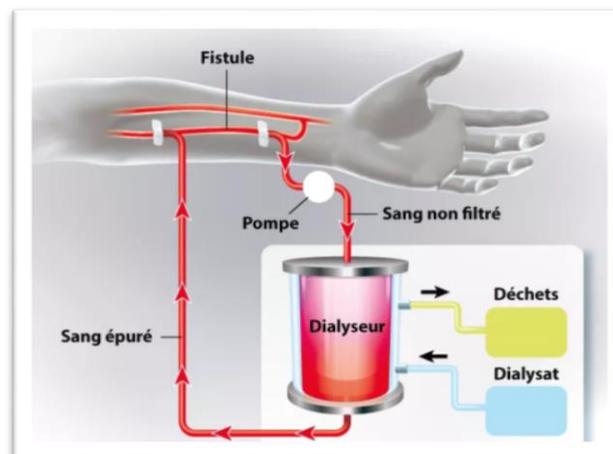


✚ Remarque

- Les Cristalloïdes sont des petites et/ou moyennes molécules.
- Les macromolécules sont de structure colloïdale (polymère de divers nature, protidique (albumines, globulines) et glucidique. Sont des molécules appartenant à l'organisme du Sang, comme les enzymes ....ext.

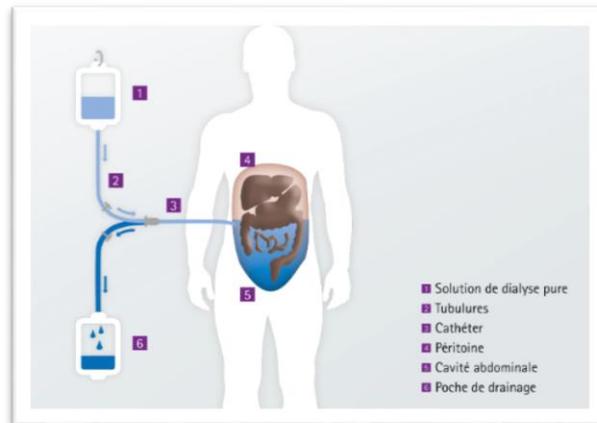
✚ Types de dialyse

1. Hémodialyse : Le sang est filtré à l'extérieur du corps à travers un rein artificiel, puis réintroduit dans le corps.



2. Dialyse péritonéale : Le liquide de dialyse est introduit dans la cavité péritonéale de l'abdomen, où il absorbe les déchets et l'excès de liquide à travers la membrane péritonéale.





La dialyse est un traitement vital pour les personnes souffrant d'insuffisance rénale aiguë ou chronique, mais elle nécessite souvent des sessions régulières et peut avoir des effets secondaires à long terme.



## La chromatographie

### 1. Aspects généraux

#### 1.1-Définition

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analysées à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile.

#### 1.2-Nature des phases

##### 1.2.1-Phase fixe

La phase fixe peut être solide ou liquide. Les solides (silices  $\text{SiO}_2$ ) ou alumine traitées) permettent la séparation des composants des mélanges grâce à leurs propriétés adsorbants.

La phase fixe peut être constituée par un liquide plongeant un support solide.

##### 1.2.A-Phase mobile

La phase mobile est

- + soit un gaz (exp : chloroforme en phase gazeuse), la phase est appelée gaz vecteur ou gaz porteur.
- + Soit un liquide (exp : chromatographie sur papier, couche mince, ou sur colonne), la phase mobile est appelée éluant.

### 2. Classification des méthodes chromatographiques

#### 2.1-Classification selon la nature des phases

##### 2.1.A-Selon la nature de la phase mobile

On distingue :

- La chromatographie liquide CPL
- La chromatographie gazeuse CPG
- La chromatographie supercritique CPS



### 2.1.B-selon la nature de la phase fixe

On distingue :

- La chromatographie gaz/solide CGS
- La chromatographie gaz/liquide CGL
- La chromatographie liquide/solide CLS
- La chromatographie liquide/liquide CLL

### 2.2-Classification selon la nature des phénomènes

#### 2.2.A-Chromatographie d'adsorption

C'est la méthode la plus ancienne et la mieux connue. Ce mode de chromatographie met en jeu un mécanisme d'adsorption du soluté sur la phase stationnaire solide et un mécanisme d'éluion (désorption) par la phase mobile liquide ou gazeuse (éluant). Il s'agit de chromatographie liquide/solide CLS. L'éluion ou désorption consiste alors, à extraire le soluté adsorbé à l'aide d'un solvant appelé éluant.

#### 2.2.B-Chromatographie de partage

La chromatographie de partage (ou chromatographie liquide-liquide) met en jeu un mécanisme de partition entre solvants que constituent respectivement par la phase stationnaire et la phase mobile. La phase stationnaire peut être constituée par un film liquide (non miscible avec la phase mobile bien sûr) imprégné sur un support rigide (silice) ou fixé par liaison covalente

#### 2.2.C-La chromatographie d'échange d'ions

Dans la chromatographie d'échange d'ions, la phase stationnaire comporte des groupements ionisés (+ ou -) fixes ; des ions mobiles de charge opposée assurent l'électroneutralité. Les ions retenus au voisinage des charges fixes sont échangeables avec les ions présents dans la phase mobile. La séparation est basée sur cette propriété d'échange d'ions et ne peut donc s'appliquer qu'à des solutés ionisables.

#### ✚ Réaction d'échange d'ions



Le système peut s'écrire :  $\text{Br} + \text{As} \leftrightarrow \text{Ar} + \text{Bs}$  (r = fixé sur la résine; s = en solution)



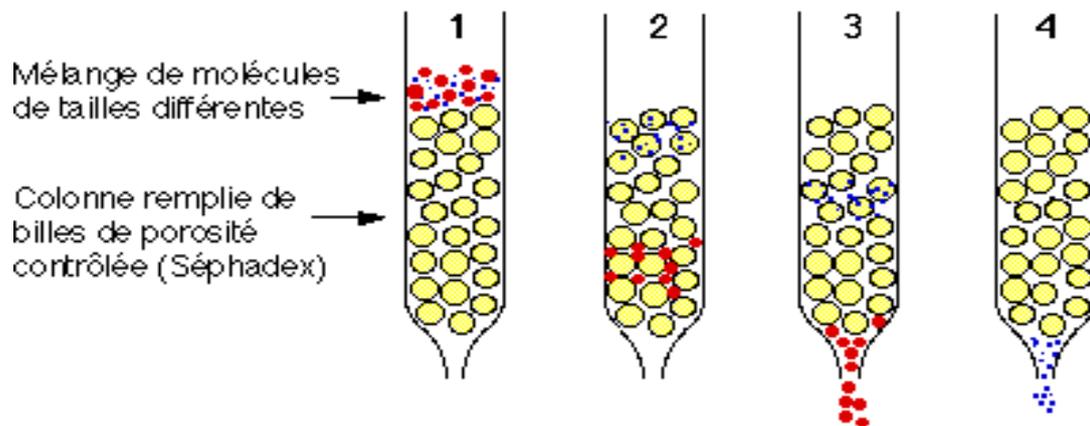
### 2.2.D-La chromatographie d'exclusion

La chromatographie d'exclusion est aussi appelée filtration sur gel. Cette technique est apparue en 1959 avec un produit nouveau : le Sephadex.

Le Sephadex est un gel, se présente sous forme de billes, dont la porosité dépend du degré de réticulation. Ces billes sont très hydrophiles.

#### ✚ Principe de la chromatographie d'exclusion

- 1- Dépôt d'un mélange de deux molécules (des grosses et des petites) sur une colonne remplie d'un gel de Sephadex.
- 2- Les petites molécules peuvent pénétrer dans les billes de Sephadex car leur diamètre est inférieur à celui des pores du gel. Les grosses molécules ne le peuvent pas en raison de leur grande taille ; elles sont donc **exclues** du gel (d'où le nom de chromatographie d'exclusion).
- 3- Les grosses molécules ont donc un trajet plus court à parcourir pour arriver en bas de la colonne; elles sont donc élues les premières.
- 4- Les petites molécules sont élues ensuite car elles ont une plus grande distance à parcourir pour arriver en bas de la colonne.



### 3. Classifications selon les procédés utilisés

Selon le conditionnement de la phase stationnaire, on distinguera :

#### 3.1-La chromatographie sur couche mince CCM

Le succès de la CCM comme méthode de séparation analytique, repose sur de nombreuses propriétés :

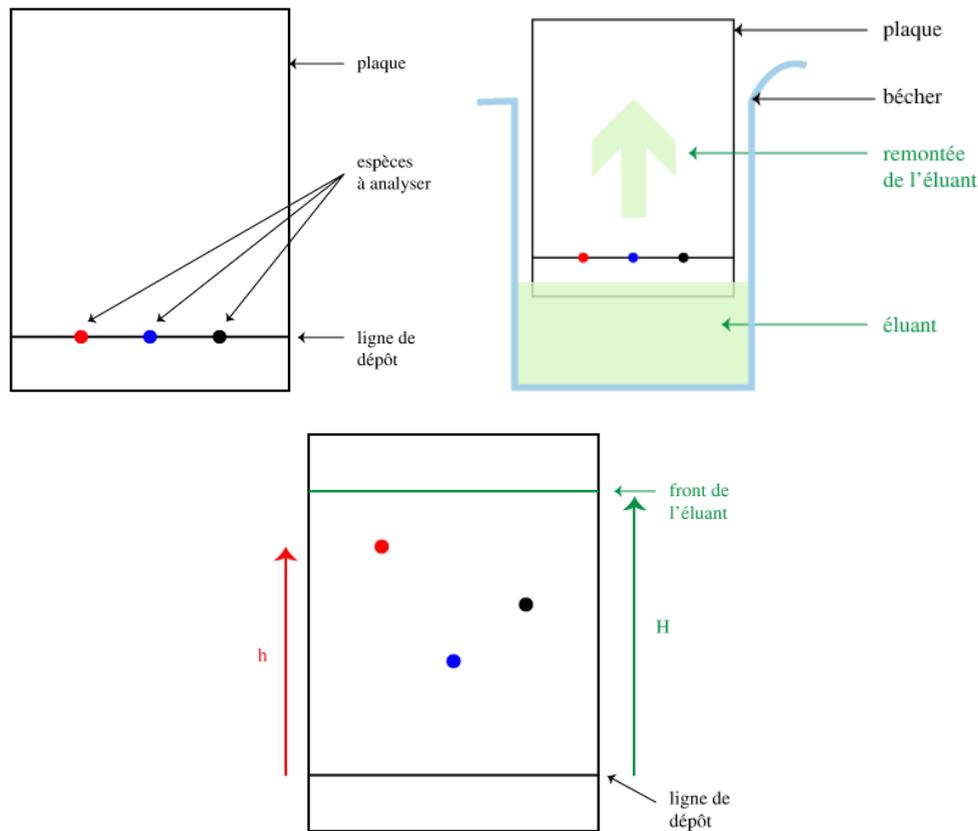
- possibilité d'analyser un grand nombre d'échantillons en très peu de temps
- Après la séparation, l'information peut être conservée à long terme et les substances séparées peuvent être soumises à une analyse complémentaire (par exemple: la spectroscopie IR ou de masse)

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

#### 3.1.A-Principe de la technique

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.





### 3.1.B-Adsorbants et plaques chromatographiques

Par ordre d'importance décroissante, les adsorbants employés en CCM sont : le gel de silice, l'alumine, le kieselguhr et la cellulose.

### 3.1.C-Choix de l'éluant

L'éluant est formé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants. Un éluant qui entraîne tous les composants de l'échantillon est trop polaire ; celui qui empêche leur migration ne l'est pas suffisamment.

### 3.1.D-Développement de la plaque

La plaque est placée en position verticale dans une cuve et le solvant qui en recouvre le fond monte par capillarité. Le niveau de liquide est ajusté à environ 0,5 cm du fond de la cuve puis on introduit la plaque. Pendant le développement du chromatogramme, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée. Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de



l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir.

### 3.1.E-Révélation

Lorsque les composants de l'échantillon analysé sont colorés, leur séparation est facilement observable sur la plaque ; dans le cas contraire, on doit rendre les taches visibles par un procédé de révélation. Les taches sont ensuite cerclées au crayon. Les méthodes usuelles de révélation sont les suivantes : radiations UV, iode.

### 3.1.F-Calcul de $R_f$ (retarding factor ou rapport frontal)

$h$  : distance parcourue par le composé (mesuré au centre de la tache)

$H$  : distance parcourue par le front du solvant

$$R_f = h/H$$

#### Remarque

Une méthode simple pour trouver l'éluant approprié consiste à préparer des solutions de l'échantillon dans différents solvants, en concentration d'environ 2 à 5% en volume. A l'aide d'une micropipette, on dépose une goutte de chaque solution sur une plaque, chacune séparée d'environ 1 cm. Le meilleur éluant est celui qui, lorsqu'il a terminé sa migration, a entraîné le soluté à une distance d'environ la moitié de celle qu'il a parcourue.

## 3.2-Chromatographie sur colonne

### 3.2.A-Description et principe

C'est une technique basée sur des phénomènes d'adsorption. La phase solide, le plus souvent l'alumine ou la silice, remplit une colonne de longueur et de section variable, l'échantillon, en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. On peut utiliser comme éluant un solvant unique ou bien accroître progressivement la polarité de l'éluant de façon à accélérer le déplacement des composés.



Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. A mesure que chaque zone s'écoule de la colonne, on la recueille.

### **3.2.B-Adsorbant**

Le plus utilisé est l'alumine ; cependant, on la limitera aux composés organiques stables car, sous sa forme basique, elle peut provoquer la déshydratation des esters par exemple.

Le gel de silice est également fréquemment utilisé pour la séparation de composés qui n'ont pas une stabilité suffisante pour être traités par l'alumine.

La granulométrie de l'adsorbant doit être supérieure à celle des adsorbants utilisés en CCM. Leur taille est habituellement comprise entre 50 et 200  $\mu\text{m}$ .

La quantité d'adsorbant dépend de la difficulté de la séparation et de la masse d'échantillon.

On peut considérer que pour chaque gramme d'échantillon, il faut 30 à 50 g d'adsorbant si la polarité des composants à séparer est très différente et jusqu'à 200 g si la séparation est difficile.

### **3.2.C-Eluant**

L'éluant est en général un mélange de deux solvants. Au début de l'élution, on commence par le solvant le moins polaire qui entraîne les substances les moins retenues par l'adsorbant (les moins polaires). Ensuite on fait varier la composition de l'éluant en additionnant graduellement le solvant le plus polaire. Ainsi les composés les plus polaires, retenus sur l'adsorbant, ne migreront que graduellement vers le bas de la colonne.

### **3.2.D-Remplissage de la colonne**

C'est l'opération la plus délicate car le remplissage doit être le plus homogène possible et exempt de bulle d'air. Les surfaces inférieure et supérieure de l'adsorbant doivent être parfaitement horizontales. La colonne étant verticale, le remplissage peut être réalisé selon deux méthodes au choix.



#### Remplissage par voie humide

prépare dans un bécher un mélange homogénéisé de l'adsorbant et du moins polaire des solvants utilisé pour le développement en ajoutant par petites quantités l'adsorbant dans le solvant pour obtenir une bouillie suffisamment fluide pour couler facilement.

A l'aide d'un entonnoir, on verse suffisamment de bouillie pour que l'adsorbant qui se dépose progressivement forme une couche d'environ 2 cm. On tapote les parois de la colonne pour favoriser le tassement de l'adsorbant. On ouvre alors le robinet pour que le solvant s'écoule lentement et on poursuit l'addition de la bouillie homogénéisée par portions successives. Quand tout l'adsorbant est introduit, on laisse décanter jusqu'à ce que le liquide qui surnage soit limpide.

Pendant l'opération, on doit veiller à ce que le niveau de solvant soit toujours supérieur à celui de l'adsorbant.

#### Remplissage par voie sèche

La colonne est remplie au deux tiers par le moins polaire des deux solvants et l'adsorbant en poudre est ajouté en portions successives dans la colonne à l'aide d'un entonnoir ; pendant l'addition, on frappe continuellement sur les parois pour obtenir un tassement maximal. Quand la première portion forme une couche d'environ 2 cm, on ouvre le robinet pour faire couler lentement le solvant. On termine comme précédemment

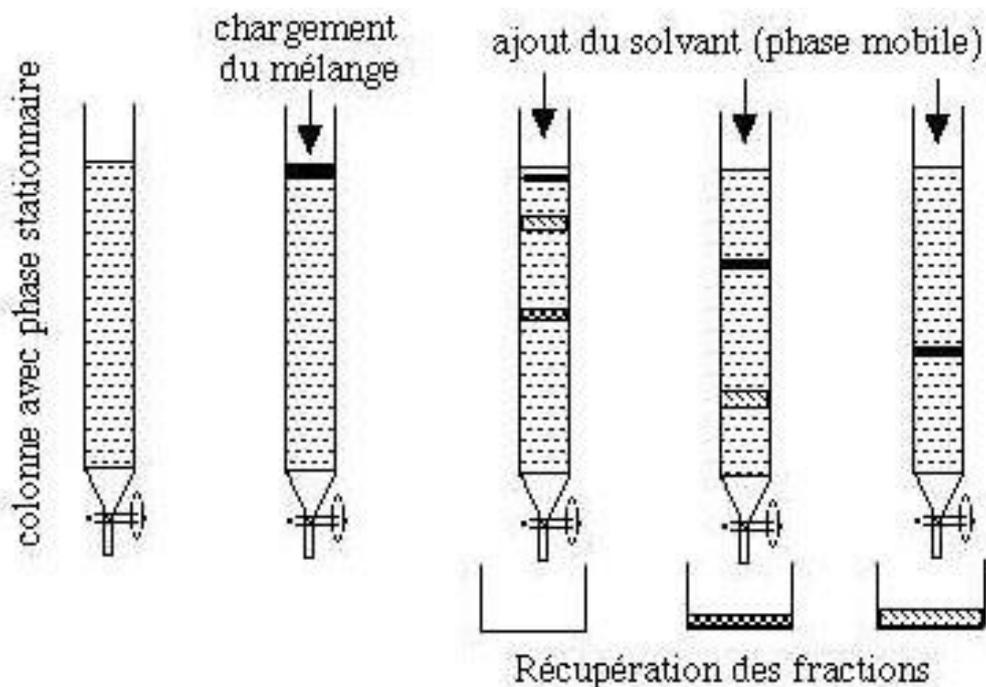
#### Dépôt des produits à analyse

Ils doivent former une zone cylindrique étroite dans le haut de la colonne. Un liquide est déposé tel quel. Un solide sera dissous dans le minimum du moins polaire des deux solvants. On ajuste d'abord le niveau de solvant pour qu'il soit juste au-dessus de celui de l'adsorbant. A l'aide d'une pipette, on coule l'échantillon au sommet de la colonne de façon uniforme sur toute la surface de la colonne sans la déformer. Si nécessaire, on a juste à nouveau, comme précédemment, le niveau de liquide de la colonne : l'échantillon est ainsi adsorbé uniformément au sommet de la colonne. On peut placer un verre fritté ou une rondelle de papier filtre au-dessus de l'adsorbant pour prévenir une remise en suspension de l'adsorbant.



✚ **Elution**

On peut alimenter la colonne en continu à l'aide d'une ampoule de coulée ou bien ajouter manuellement l'éluant. Dans tous les cas, la surface de l'adsorbant ne doit jamais être au contact de l'air. En quelques minutes, une colonne laissée à sec se détériore : des fissures apparaissent dans la phase fixe et toute élution ultérieure se transforme en ruissellement. Pour la plupart des opérations, une vitesse de 5 à 50 gouttes à la minute convient (la limite inférieure correspond aux séparations difficiles) Lorsque l'analyse des fractions est terminée, on réunit celles qui correspondent à des produits identiques, en prenant soin d'éliminer celles qui correspondent à des recouvrements de zones. Les substances obtenues de cette façon sont généralement d'une très grande pureté.



**3.3-La chromatographie gazeuse (CG)**

Est une technique analytique utilisée pour séparer et analyser les composants d'un mélange gazeux. Elle repose sur les principes de la séparation des composés en fonction de leur affinité

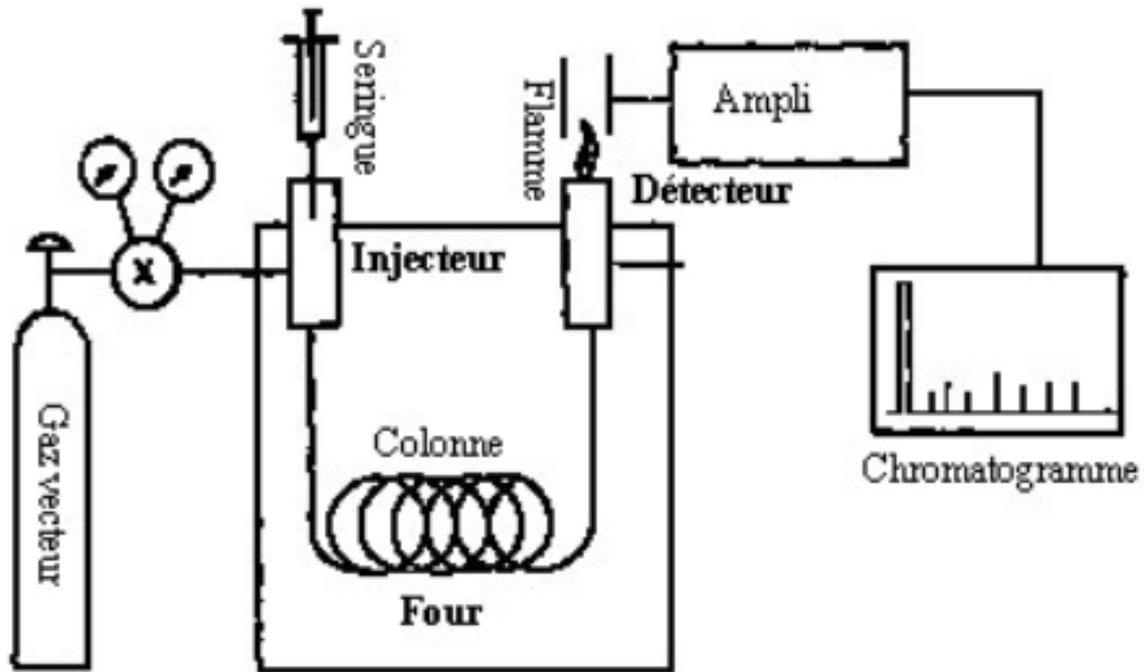


pour une phase stationnaire et une phase mobile dans une colonne chromatographique. Voici les étapes générales de cette méthodes :

1. *Injection de l'échantillon* : L'échantillon à analyser est injecté dans un flux de gaz inerte, souvent de l'hélium, qui sert de phase mobile.
2. *Colonnes chromatographiques* : La colonne chromatographique est généralement longue et mince, remplie de matériau stationnaire. Les molécules dans l'échantillon interagissent différemment avec ce matériau, ce qui entraîne leur séparation.
3. *Élution* : Le mélange est transporté à travers la colonne par le gaz porteur (phase mobile). Les composants se déplacent à des vitesses différentes en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire.
4. *Détection* : À mesure que les composants sortent de la colonne, ils passent devant un détecteur. Ce détecteur mesure l'abondance ou la concentration des composés à différents moments.
5. *Analyse des données* : Les données recueillies par le détecteur sont analysées pour identifier et quantifier les composants présents dans l'échantillon.

La chromatographie gazeuse est largement utilisée dans de nombreux domaines, y compris la chimie analytique, la pharmacologie, l'industrie alimentaire, l'industrie pétrolière et gazière, ainsi que dans la recherche environnementale et médicale. Elle est appréciée pour sa grande sensibilité, sa rapidité et sa capacité à séparer les composants d'un mélange complexe.





### 3.4-La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Est une technique d'analyse chimique utilisée pour séparer, identifier et quantifier les composants d'un échantillon liquide. Contrairement à la chromatographie gazeuse, qui utilise un gaz comme phase mobile, l'HPLC utilise un liquide (généralement une solution aqueuse) comme phase mobile.

#### ✚ Principe

Les étapes de l'HPLC sont comme suite :

1. *Injection de l'échantillon* : L'échantillon à analyser est injecté dans un flux de liquide, appelé phase mobile, qui est pompé à haute pression à travers une colonne chromatographique.
2. *Colonnes chromatographiques* : La colonne chromatographique est généralement remplie de particules poreuses ou d'une substance poreuse telle que du gel de silice. Les composants de l'échantillon interagissent différemment avec cette phase stationnaire, ce qui entraîne leur séparation.

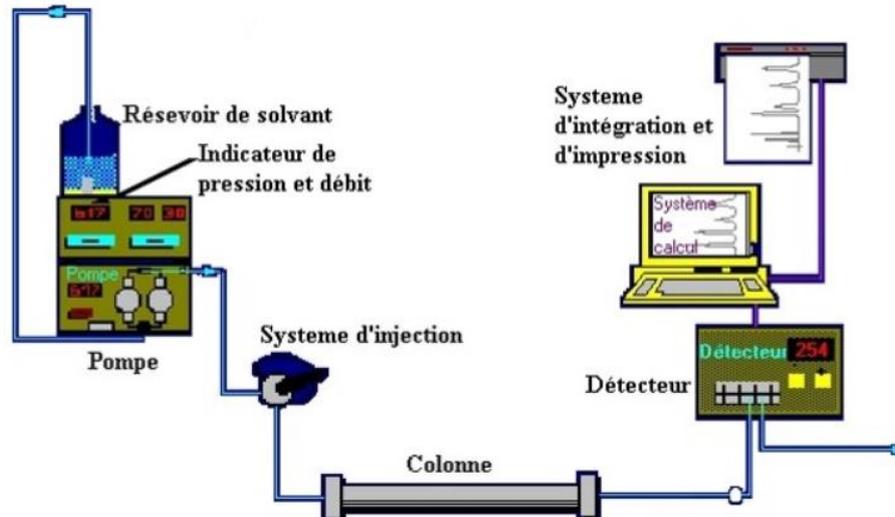


3. *Élution* : Le mélange est transporté à travers la colonne par la phase mobile à haute pression. Les composants se déplacent à des vitesses différentes en fonction de leur affinité pour la phase stationnaire.

4. *Détection* : À mesure que les composants sortent de la colonne, ils passent devant un détecteur qui mesure leur concentration. Les détecteurs couramment utilisés en HPLC comprennent les détecteurs UV-visibles, les détecteurs à fluorescence et les détecteurs de masse.

5. *Analyse des données* : Les données collectées par le détecteur sont ensuite analysées pour identifier et quantifier les composants présents dans l'échantillon.

L'HPLC est largement utilisée dans de nombreux domaines, notamment la chimie analytique, la biochimie, la pharmacologie, l'industrie alimentaire et l'industrie pharmaceutique. Elle est appréciée pour sa sensibilité élevée, sa sélectivité, sa capacité à séparer les composés chimiques et sa polyvalence pour analyser une grande variété d'échantillons.



## L'électrophorèse

### 1. Introduction

Le cours d'électrophorèse explore divers aspects liés à cette technique, allant des principes aux applications pratiques. Il débute par une introduction qui fournit des définitions et un contexte historique, puis examine les différents types d'électrophorèse, tels que l'électrophorèse sur gel, capillaire et sur papier. Les équipements nécessaires, les techniques de préparation d'échantillons et les méthodes d'analyse des données sont également abordés. Enfin, le cours explore les applications de l'électrophorèse dans des domaines tels que la protéomique, la génomique et l'analyse légale.

### 2. Définition et principes

L'électrophorèse est une technique de séparation couramment utilisée où les particules ou molécules de différentes tailles et charges se déplacent à travers une solution sous l'effet d'un potentiel électrique. Principalement utilisée pour séparer les macromolécules telles que l'ADN, l'ARN et les protéines, elle se décline en différentes techniques telles que l'électrophorèse sur gel d'agarose, sur gel de polyacrylamide et capillaire. Les molécules se déplacent en fonction de leur charge, de la force du champ électrique et de la viscosité de la solution, formant des bandes distinctes dont le motif est unique à chaque molécule. Les principes de l'électrophorèse sont comparables à ceux de la chromatographie, bien que les deux méthodes diffèrent dans leurs mécanismes de séparation. L'électrophorèse a été essentielle dans le développement de l'empreinte génétique de l'ADN, une avancée majeure en médecine légale, initialement développée par le Dr Alec Jeffreys en 1984.

### 3. Contexte historique

L'électrophorèse, bien que conceptuellement ancienne, a vu son développement moderne commencer dans les années 1930. Les premières expériences électrophorétiques ont été rapportées par Tiselius en Suède et Smith et Smith au Canada, utilisant du "papier mobile" pour séparer les protéines en fonction de leur rapport charge sur masse. À ses débuts, l'électrophorèse

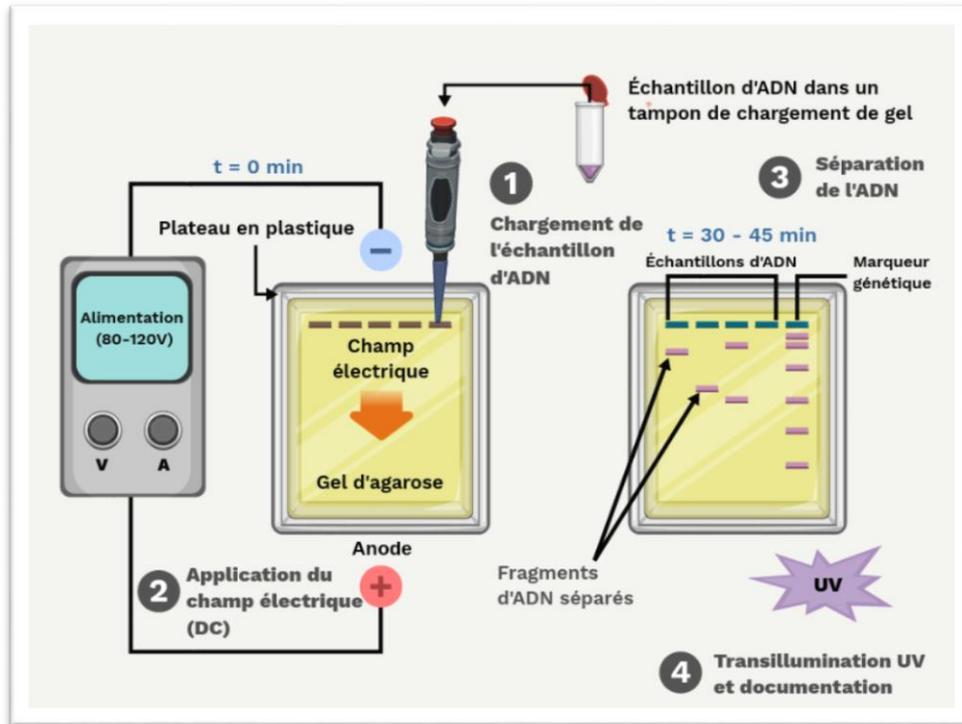


était principalement utilisée pour séparer les acides aminés et les protéines. Cependant, au fil du temps, des innovations telles que l'utilisation du polyacrylamide comme support ont permis d'élargir ses applications à la séparation des protéines et des nucléotides. Dans les années 1970, l'introduction de la technologie des gels de polyacrylamide réticulés minces a marqué une avancée majeure, devenant la méthode standard de séquençage jusqu'à l'arrivée des séquenceurs automatiques d'ADN. À la fin des années 1980, l'électrophorèse capillaire, plus avancée, est devenue préférée pour sa précision et son automatisation. Bien que l'électrophorèse ait été initialement une méthode de recherche chimique, son utilisation s'est étendue aux domaines médicaux et génomiques. Aujourd'hui, l'électrophorèse est reconnue comme la migration de particules chargées sous l'influence d'un champ électrique, et ses applications se sont multipliées dans des domaines tels que la chimie clinique, le diagnostic des maladies génétiques, les hémoglobinopathies, l'oncologie et la médecine légale.

#### 4. L'électrophorèse sur gel

Les sources fournies discutent de manière approfondie de la technique d'électrophorèse sur gel d'agarose. L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode couramment utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour séparer l'ADN, l'ARN ou les protéines en fonction de leur taille et de leur charge. C'est une technique puissante et largement utilisée pour séparer les macromolécules en utilisant des gels tels que l'agarose et le polyacrylamide, qui possèdent des pores de tailles adaptées aux molécules en cours de séparation. En laboratoire, le processus implique la préparation du gel en dissolvant de la poudre d'agarose dans une solution tampon, en le refroidissant pour le solidifier et en créant des puits pour le placement des échantillons. Les échantillons, souvent mélangés à des composants améliorant la densité tels que le glycérol ou le saccharose, sont chargés dans les puits. Le gel est ensuite plongé dans un tampon électrolytique, et un courant électrique est appliqué pour séparer les molécules en fonction de leur charge et de leur taille. Cette technique est cruciale pour diverses applications, telles que l'identification des fragments d'ADN coupés par des enzymes, l'identification génique et l'empreinte génétique. Elle est relativement simple à réaliser et offre des capacités de séparation efficaces, notamment pour les biomolécules chargées telles que l'ADN, l'ARN et les protéines. Dans l'ensemble, les sources fournissent des informations détaillées sur les principes, la pratique et les applications de l'électrophorèse sur gel d'agarose, en faisant un sujet fondamental dans les études de biochimie et de biologie moléculaire.



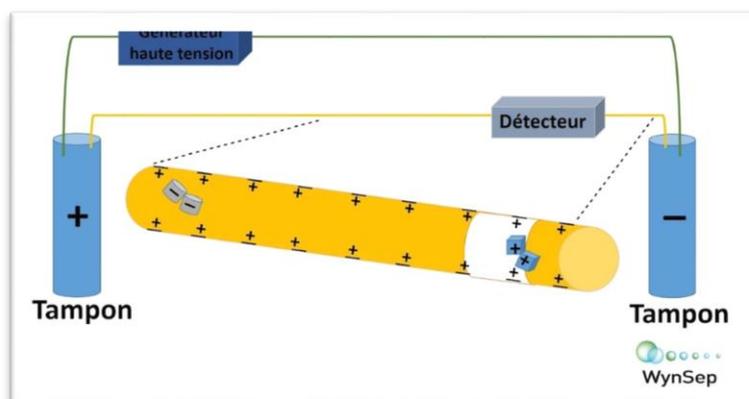


## 5. Electrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire (EC) est une technique utilisée en chimie analytique pour séparer les composés en fonction de différents critères tels que leur rapport charge/taille, leur hydrophobicité, leur chiralité, leur taille ou leur point isoélectrique. Cette méthode est particulièrement efficace pour séparer les molécules chargées et offre une capacité de pic élevée par rapport à la chromatographie liquide haute performance (CLHP). L'EC est réalisée dans un tube en verre appelé capillaire rempli d'une solution électrolytique, où les analytes sont séparés en raison des différences de mobilité électrophorétique influencées par des facteurs tels que la charge, la viscosité du solvant et la taille. La technique est connue pour ses séparations de haute performance, souvent plus rapides et plus efficaces que la chromatographie liquide, en particulier pour les molécules chargées.

En EC, les molécules sont séparées en fonction de leur mobilité électrophorétique, qui est déterminée par leur charge et leur réponse au champ électrique appliqué. L'instrumentation pour l'électrophorèse capillaire peut être relativement simple, mais la CLHP offre plus de flexibilité avec diverses phases stationnaires et mobiles développées pour différents types de molécules. L'EC est largement utilisée dans divers domaines tels que la pharmacie, la biologie, l'environnement, les sciences alimentaires et la criminalistique, démontrant sa polyvalence et son applicabilité dans différents secteurs industriels.

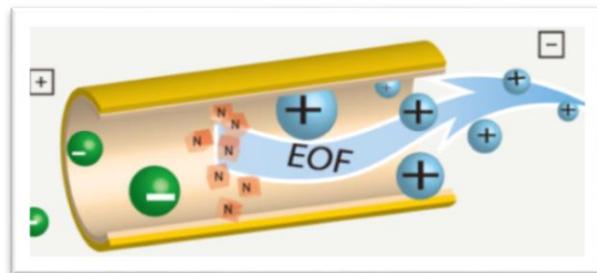
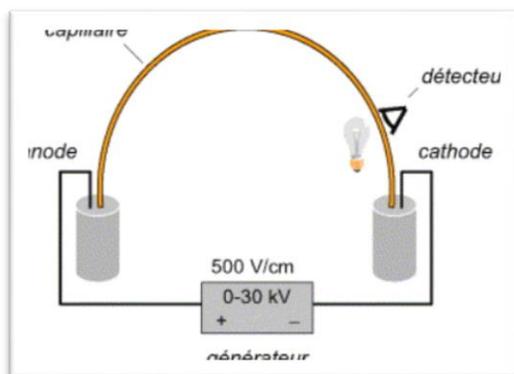
Dans l'ensemble, l'électrophorèse capillaire est une technique analytique puissante qui permet la séparation des composés avec une efficacité et une rapidité élevées, en faisant un outil précieux dans diverses disciplines scientifiques.



L'électrophorèse capillaire est une technique d'analyse qui utilise un tube capillaire rempli d'un électrolyte pour séparer des molécules chargées en fonction de leur taille et de leur charge. Voici comment fonctionne l'électrophorèse capillaire :

#### ✚ Principe de fonctionnement

- Un tube capillaire en verre est rempli d'un électrolyte tamponné qui sert de milieu de séparation.
- Les molécules chargées sont injectées dans le capillaire et un champ électrique est établi entre les deux extrémités pour créer un champ électrique.
- Sous l'influence de ce champ, les molécules se séparent en bandes distinctes à travers le capillaire, formant un profil de séparation basé sur leur taille et charge.



#### ✚ Étapes de séparation

- Les molécules sont injectées dans le capillaire et se déplacent sous l'effet du champ électrique.
- Elles passent par un point de détection où leur présence est mesurée.
- La détection peut se faire par fluorescence, spectrophotométrie UV ou conductimétrie.

#### ✚ Conditions d'analyse des résultats

- L'électrophorèse permet la séparation et l'analyse des molécules chargées en fonction de leur taille, charge et mobilité électrophorétiques.



- Cette technique est largement utilisée en biologie moléculaire, biochimie et biotechnologie pour son efficacité dans la séparation des composés.

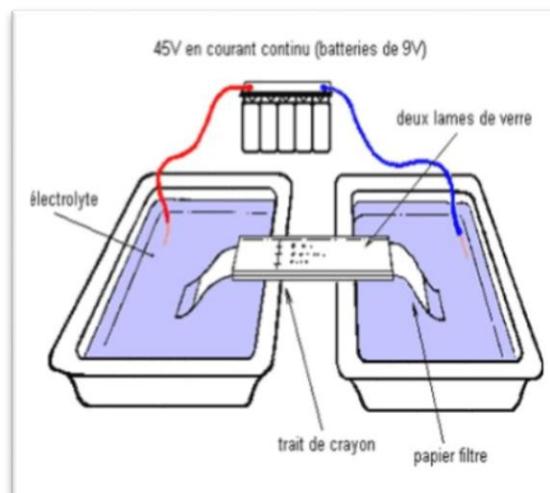
En résumé, l'électrophorèse capillaire repose sur la migration des molécules chargées à travers un tube capillaire sous l'effet d'un champ électrique, permettant ainsi leur séparation en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques.

## 6. L'électrophorèse sur papier

L'électrophorèse sur papier est une technique d'électrophorèse qui permet la séparation de molécules de petite taille, telles que les acides aminés. Voici comment fonctionne l'électrophorèse sur papier selon les sources fournies :

### ✚ Principe de fonctionnement

- Une goutte de solution contenant l'échantillon à analyser est déposée sur une bande de papier, puis séchée.
- La bande de papier est humidifiée avec un tampon approprié et plongée dans des réservoirs contenant le tampon connecté à des électrodes.
- Un champ électrique continu est appliqué, et les acides aminés se déplacent en fonction de leur charge nette.
- En fin d'électrophorèse, la bande de papier est séchée, et les acides aminés sont révélés par une réaction colorimétrique.



 **Applications**

- L'électrophorèse sur papier est pratique pour la séparation des acides aminés et des petites molécules.

- Elle permet également de déterminer le point isoélectrique d'un acide aminé.

En résumé, l'électrophorèse sur papier est une méthode peu résolutive mais efficace pour la séparation des molécules de petite taille, offrant une analyse rapide et économique des échantillons.



## Références

- Francis Rouessac., Annick Rouessac., Daniel Craché., 2004. Analyse Chimique, 6ème Edition, Dunod, Paris.
- Hamon, M., Mahuzier, G. ,1999. CHIMIE ANALYTIQUE. : Tome 2, Méthodes de séparation, 3ème édition (Elsevier Masson).
- Gwenola Burgot., Jean Louiss Burgot., 2011. Méthodes instrumentales d'analyse chimique et Applications, 3ème Edition,
- Mireille Blanchard-Desce., Bruno Fosset., François Guyot., Ludovic Jullien., Serge Palacin., 1997. Chimie Organique Experimentale, Hermann (Editeurs des sciences et des Arts).
- Elodie Martinand-Lurin., Raymond Grüber., 2012. 40 expériences illustrées de chimie générale et organique : la chimie, une science expérimentale, Edition (Boeck).
- Professeur Foulon., 2017. Cours (Extraction Liquide-Liquide), Université de Lille.
- Professeur Foulon., 2017. Cours (La chromatographie), Université de Lille.
- Professeur Foulon., 2017. Cours (Electrophorèse Capillaire), Université de Lille.
- Prof MERGHEM R., Cours de Techniques d'Analyses des Protéines, M1 Biochimie, Université Frères Mentouri-Constantine 1.
- <https://www.alloprof.qc.ca/fr/eleves/bv/sciences/la-separation-des-melanges-s1049>
- <https://www.youtube.com/watch?v=2T9mMBhg-9I>
- <https://www.studocu.com/fr/document/centre-universitaire-amine-elokkal-el-hadj-moussa-de-tamanrasset/methodes-de-separation/2-chapitre-2methodes-de-separation/17439821>
- <https://www.products.pcc.eu/fr/academy/methodes-de-separation-du-melange/>
- [https://staff.univ-batna2.dz/sites/default/files/rahmouni\\_naima/files/chapitre3-electrophorese.pdf](https://staff.univ-batna2.dz/sites/default/files/rahmouni_naima/files/chapitre3-electrophorese.pdf)
- <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BCM/2019/Les%20techniques%20%C3%A9lectrophor%C3%A9tiques.pdf>
- <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/BA/2019/electrophorese.pdf>
- <https://elearning.univ-bejaia.dz/mod/resource/view.php?id=220045>
- <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-laboratoire/l-electrophorese>



