



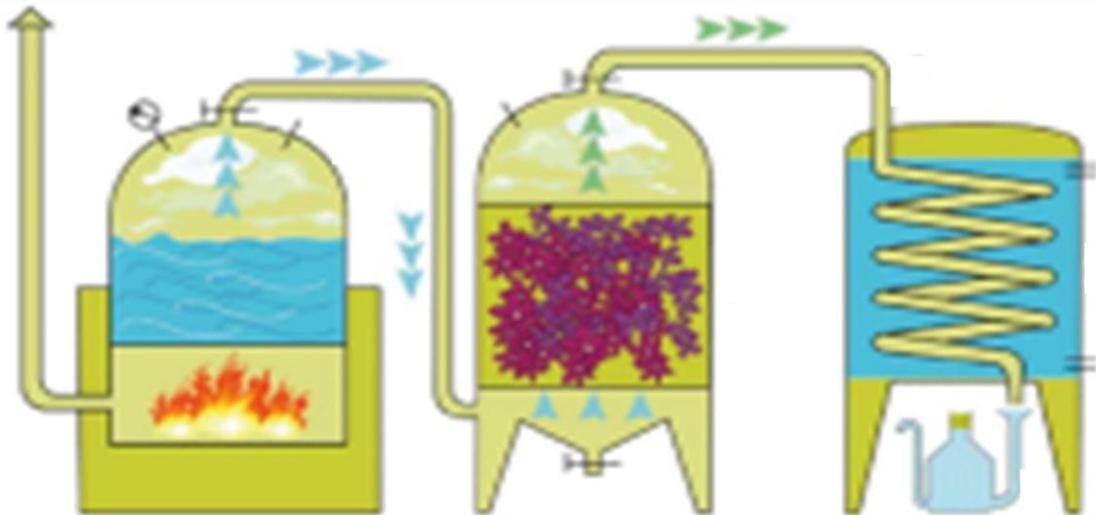
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Frère Mentouri Constantine 1
Institut de Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires
Département de Technologie Alimentaire

Polycopié du Cours: Techniques de séparation

Partie du module "Chimie Analytique"



Présenté par Dr. Sabrina BENDIA

2^{ème} Année Licence: Sciences Alimentaires (L2SA)

Année: 2019/2020

Intitulé du Licence: Licence Sciences Alimentaires (LSA)

Intitulé de la matière: Chimie Analytique.

Partie: Techniques de Séparation

Semestre: 04

Contenu de la matière:

Techniques de séparation:

- Distillations
- Extractions
- Précipitations
- Filtrations
- Techniques chromatographiques (CCM, CPG, HPLC)
- Techniques électrophorétiques
- Séparation par membrane

L'objectif du cours: Apprendre à l'étudiant les pratiques et les méthodes expérimentales importantes dans un laboratoire. A la fin du cours, l'étudiant(e) sera familiarisé(e) avec les techniques de séparation des mélanges.

Table des matières

Introduction	1
I. Distillations	2
I.1. Distillation simple	2
I.1.1. Principe.....	2
I.1.2. Montage	3
I.1.3. Exemple de traitement d'un mélange	3
I.2. Distillation fractionnée.....	3
I.2.1. Principe.....	3
I.2.2. Montage	4
I.3. Exemple d'application	4
II. Filtration.....	5
II.1. Définition	5
II.2. Principe de la filtration	6
II.3. Filtration gravimétrique (filtration par gravité)	6
II.3.1. Principe	6
II.3.2. Montage.....	6
II.4. Filtration sous vide	7
II.5. Filtration sous pression	8
II.6. Réalisation d'une filtration	9
II.7. Exemples d'application	9
III. Précipitation	10
III.1. Principe	10
III.2. Schéma de précipitation	10
III.3. Précipitation en biochimie	11
III.4. Exemple d'application	11
IV. Extraction	11
IV.1. Définition	12
IV.3. Principe.....	12
IV.4. Extraction liquide-liquide.....	13
IV.4.1. Principe	13
IV.4.2. Protocole d'extraction.....	13

IV.5. Extraction solide-liquide	14
IV.5.1. Principe	15
IV.5.2. Extraction discontinue.....	15
IV.5.3. Extraction continue	16
IV.5.4. Protocole d'extraction.....	16
IV.6. Extraction par hydro-distillation	16
IV.6.1. Principe	17
IV.6.2. Exemple d'application	17
V. Techniques chromatographique.....	18
V.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	18
V.1.1. Principe.....	19
V.1.2. Applications de la CCM.....	20
V.1.3. Exemple d'application	20
V.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	21
V.2.1. Principe.....	21
V.2.2. Appareillage	22
V.2.3. Utilisation de la CPG.....	22
V.2.4. Exemple d'application	23
V.3. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)	23
V.3.1. Principe.....	23
V.3.2. Appareillage	24
V.3.3. Domaine d'application	24
VI. Techniques électrophorétiques	24
VI.1. Principe.....	25
VI.2. Types d'électrophorèse	25
VI.2.1. Electrophorèse en des conditions non dénaturantes.....	25
VI.2.2. Electrophorèse en des conditions dénaturantes	25
VI.2.2.1. Electrophorèse en veine liquide (électrophorèse libre).....	25
VI.2.2.2. Electrophorèse de zone sur support	26
VI.3. Appareillage d'électrophorèse.....	26
VI.4. Exemple d'application	27
VII. Séparation par membrane	27
VII.1. Principe	27

VII.2. Microfiltration.....	28
VII.2.1. Exemple d'application	29
VII.3. Ultrafiltration	29
VII.4. Nanofiltration	30
VII.4.1. Domaine d'application.....	31
VII.5. Osmose inverse.....	31
VII.6. Applications	32
Références.....	33

Liste des figures

<i>Figure 1: Schéma d'une simple distillation.....</i>	03
<i>Figure 2: Schéma d'une distillation fractionnée.....</i>	04
<i>Figure 3: Montage de filtration par gravité.....</i>	07
<i>Figure 4: Schéma d'une filtration sous vide.....</i>	08
<i>Figure 5: Filtration sous pression.....</i>	09
<i>Figure 6: Protocole de précipitation.....</i>	10
<i>Figure 7: Schéma d'extraction liquide-liquide.....</i>	14
<i>Figure 8: Schéma d'un appareil de Soxhlet.....</i>	15
<i>Figure 9: Schéma d'un montage d'hydrodistillation.....</i>	17
<i>Figure 10: Schéma d'une CCM.....</i>	20
<i>Figure 11: Exemple d'un chromatogramme de mélange des aliments.....</i>	21
<i>Figure 12: Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse.....</i>	22
<i>Figure 13: Schéma d'un système d'HPLC.....</i>	24
<i>Figure 14: Appareillage d'électrophorèse.....</i>	27
<i>Figure 15: Principe de fonctionnement de séparation membranaire.....</i>	28
<i>Figure 16: Schéma de microfiltration.....</i>	28
<i>Figure 17: Principe de l'ultrafiltration.....</i>	30
<i>Figure 18: Principe de nanofiltration.....</i>	30
<i>Figure 19: Principe de fonctionnement d'osmose inverse.....</i>	31

Introduction

Les besoins de l'industrie de produit qui répond à des spécifications données, nécessitent une séparation préalable en différents constituants ou différentes fractions, pour cela il existe des méthodes de séparation, décrit comme un ensemble des procédés mécaniques et physique chimique permettent de séparer les divers corps purs formant un mélange, c.-à-d. qu'elles permettent de réaliser le transfert d'un soluté initialement contenu dans une phase liquide, solide ou gaz vers une phase non miscible au premier milieu.

Les substances les plus courantes dans la nature sont des mélanges. L'eau salée, par exemple, est un mélange d'eau et de sel tandis que l'air est un mélange de divers gaz. Il arrive très souvent qu'une substance doive être purifiée avant d'être utilisée. Ainsi, l'eau de mer n'est pas potable mais l'eau distillée est potable.

La séparation de divers mélanges fait appel à des techniques de purification/séparation variées. Cela nous procure donc l'occasion d'étudier de petites techniques.

Les techniques de séparation des mélanges servent à isoler ou à séparer certains constituants des mélanges dans lesquels ils se trouvent. Il est souvent nécessaire, pour obtenir une substance pure, de la séparer de toutes les autres substances qui l'accompagnent. Le choix de la technique varie en fonction du mélange, de la substance que l'on doit séparer du reste du mélange et des phases qui constituent le mélange.

Un mélange peut être sous deux formes, hétérogène lorsqu'il forme deux ou plusieurs phases, homogène lorsqu'il forme une seule phase, le premier mélange hétérogène sa séparation effectuée dans un appareillage à décantation, le second mélange homogène nécessite la mise en œuvre de procédés parfois complexes.

Les principales techniques de séparation des mélanges les plus utilisées sont:

- ✓ **Distillations**
- ✓ **Précipitations**
- ✓ **Techniques chromatographiques (CCM, CPG, HPLC)**
- ✓ **Séparation par membrane**
- ✓ **Filtrations**
- ✓ **Extractions**
- ✓ **Techniques électrophorétiques**

I. Distillations

La distillation est une opération de transfert de matière ayant pour but de séparer les constituants d'un mélange liquide, homogène ou hétérogène. Elle consiste en l'ébullition d'un mélange liquide suivie de la condensation des vapeurs obtenues, en un liquide «pur» ou en fractions liquides plus ou moins riches en constituants du mélange vaporisé. Elle se base sur la différence de volatilité entre ces constituants. C'est l'une des opérations de séparation les plus employées dans le domaine de l'agroalimentaire, la chimie et de la pétrochimie.

La distillation permet de séparer les constituants d'un mélange solide-liquide (S –L) ou liquide –liquide (L –L).

Il existe deux types de distillation:

- Distillation simple

- Distillation fractionnée

I.1. Distillation simple

I.1.1. Principe

Le principe de la distillation est très simple: on chauffe un mélange de liquides atteindre le point d'ébullition d'un des constituants: le plus volatile s'évaporera le premier et les vapeurs sont recueillies et condensées dans un autre récipient. Pendant que le premier liquide s'évapore (distillat), le deuxième n'atteint pas sa température d'évaporation et reste sous forme liquide dans le contenant initial (résidu).

Elle se résume en deux actions:

- **Chauffer** un liquide impur ou un mélange de liquides pour les transformer en vapeurs par **ébullition**.
- **Condenser** ensuite les vapeurs par **refroidissement** et isoler les liquides purs.

Tout dépendra donc des températures d'ébullition des produits. Si les températures ne sont pas trop élevées ($T < 120^{\circ}\text{C}$), une distillation sous pression atmosphérique suffit. Par contre, si la température des composés devient trop importante, il faut recourir à un artifice: diminuer la pression. En effet, si la pression diminue, la température d'ébullition (T_{eb}) d'un liquide diminue aussi.

I.1.2. Montage

Le montage se fait en partant le chauffe ballon puis du ballon de réaction et en déposant successivement la tête de distillation, le réfrigérant, l'allonge puis le récipient.

Le démontage se fera dans l'ordre inverse.

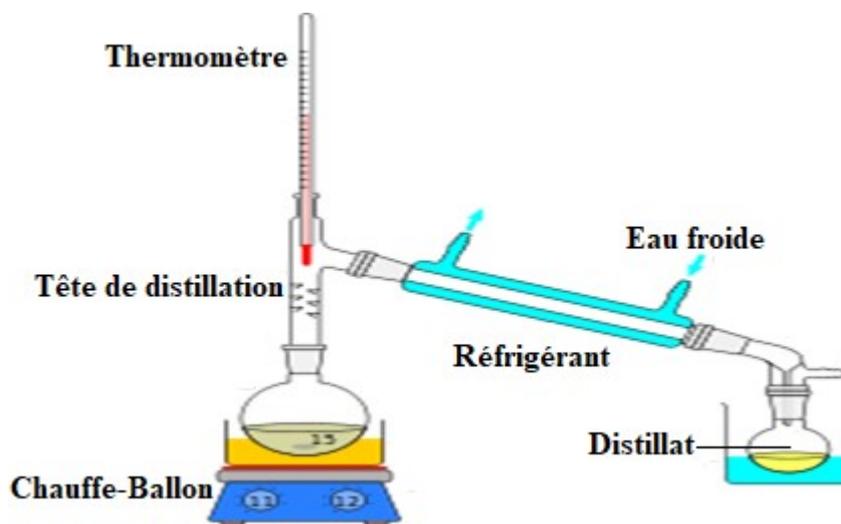


Figure 1: Schéma d'une simple distillation

I.1.3. Exemple de traitement d'un mélange

La technique de distillation permet de séparer un mélange d'alcool et d'eau, l'alcool à une température d'ébullition plus basse que l'eau alors elle s'évaporera en premier. Les vapeurs d'alcool seront recueillies et refroidies, cette condensation permettra de récupérer l'alcool (distillat) dans un autre contenant. L'eau (résidu) restera dans le contenant initial.

I.2. Distillation fractionnée

Elle concerne un mélange de plusieurs liquides miscibles, elle utilise une colonne de séparation (ou colonne de **Vigreux**) pour séparer les différents constituants du mélange en fonction de leurs températures d'ébullition au niveau de chaque plateau de cette colonne.

I.2.1. Principe

La distillation fractionnée, appelée également rectification, est un procédé permettant de séparer des liquides par fractionnement grâce à la différence de leur température d'ébullition. Le composant le plus volatil a un point d'ébullition moins haut s'évapore donc en premier. Le mélange porté à une ébullition lente reste à la même température jusqu'à ce que le composant

le plus volatil soit complètement vaporisé, chaque liquide peut ainsi être distillé en fonction de sa température d'ébullition.

I.2.2. Montage

Le mélange à séparer est placé dans un ballon (bouilleur) surmonté d'une colonne de distillation. En tête de colonne, on place un réfrigérant droit en position inclinée de façon à permettre l'écoulement des liquides qui se condensent vers une allonge de recette. Un thermomètre est placé en tête de colonne de sorte que son réservoir soit placé au niveau de la jonction avec le réfrigérant (on mesure ainsi la température de l'équilibre liquide-vapeur du composé qui est récupéré dans le distillat).

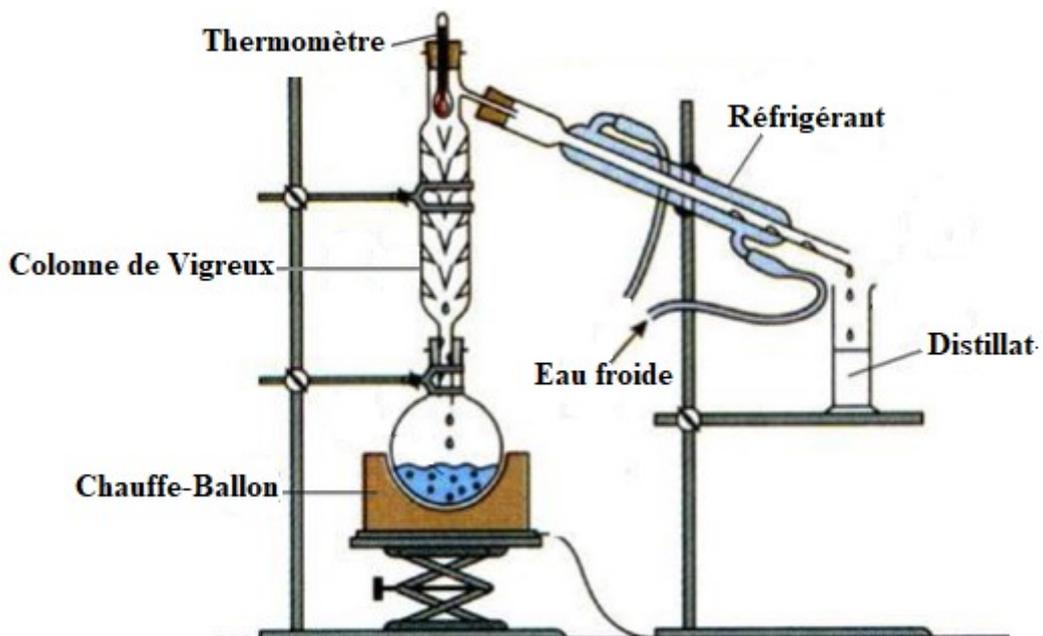


Figure 2: Schéma d'une distillation fractionnée

I.3. Exemple d'application

Un jus d'orange sans pulpe:

Etape 1: le chauffe-ballon chauffe le mélange dans le ballon et celui-ci se met à bouillir.

Etape 2: la vapeur d'eau ainsi formée monte progressivement dans la colonne de Vigreux.

Etape 3: le thermomètre permet de lire la température de la vapeur qui rentre dans le réfrigérant: elle est proche de 100 °C.

Etape 4: la vapeur d'eau (très chaude) entre en contact avec les parois du réfrigérant. Comme le réfrigérant est froid grâce à la circulation d'eau froide qui se fait autour, la vapeur d'eau se refroidit et se transforme en eau liquide.

Etape 5: les gouttes d'eau liquide ainsi formée roulent vers la sortie du réfrigérant et tombent dans le bécher. Le liquide ainsi obtenu, qui ne contient que de l'eau, est appelé le **distillat**.

II. Filtration

Après une décantation ou une centrifugation, les corps solides et liquides sont séparés mais dans un même récipient. La filtration va permettre de séparer physiquement le solide d'un liquide en faisant passer le mélange dans un filtre plus ou moins gros. Les corps solides sont piégés dans le filtre et le liquide est récupéré dans un récipient.

II.1. Définition

La filtration est une opération dont le but est de séparer une phase contenant (liquide ou gazeuse) des matières solides ou liquides (phase dispersée) qui y sont présentes en suspension, par l'aide d'un entonnoir, elle se réalise par le passage de la suspension à travers un milieu filtrant adéquat capable de retenir par action physique, plus rarement chimique, les particules solides.

Le milieu filtrant est constitué par des particules solides, elles sont mêmes déposées sur un support qui peut être selon les cas, des feuilles de papier spécial, des tissus, des toiles métalliques, du sable, des gravières. Pour faciliter l'opération et augmenter la vitesse de passage du liquide, qui dépend de la perte de charge dans les canaux du milieu filtrant, on exerce une aspiration sur le filtre, ou on augmente la pression sur le liquide à filtrer.

La filtration continue ou discontinue est utilisée lorsqu'on désire traiter des liquides ou des gaz ayant une très petite teneur en solide et en particulier lorsque les particules de solides ont une faible vitesse de sédimentation.

La microfiltration est une séparation de particules de l'ordre de micromètre.

La filtration stérilisante est un cas particulier, les particules étant des microorganismes.

Les applications de la filtration courante résultent de la séparation d'un solide dispersé dans un liquide pour obtenir:

- Un liquide clarifié, débarrassé des particules solides.
- Un solide essoré de l'excès de liquide.

C'est une technique très utilisée que ce soit dans le domaine de l'agro-alimentaire ou de la pharmacie ou par de nombreuses espèces animales, principalement aquatiques.

II.2. Principe de la filtration

La filtration est une technique qui permet de séparer les constituants d'un mélange lorsqu'un des constituants est sous la phase liquide et l'autre est sous la phase solide. Pour ce faire on utilise un filtre, ce filtre permet de retenir les particules solides qui sont plus grosses que les pores (trous) du filtre. Le liquide qui passe au travers du filtre est appelé **filtrat** et le solide que l'on recueille dans le filtre est appelé **résidu**.

Il existe trois types de filtration:

- ✓ Filtration gravimétrique
- ✓ Filtration sous vide
- ✓ Filtration sous pression

II.3. Filtration gravimétrique (filtration par gravité)

On utilise pour cela des filtres, généralement en papier, coniques ou plissés, à travers lequel le liquide s'écoule sous l'action de son propre poids. Dans cette méthode, l'entonnoir de laboratoire équipé d'un papier filtre est utilisé. La différence de pression est créée par la hauteur du liquide sur le filtre.

II.3.1. Principe

Elle repose sur l'utilisation d'un filtre constitué de mailles qui laissent passer l'eau mais retiennent les particules qu'elle contient. La filtration permet donc d'obtenir un liquide homogène.

Les trous d'un papier filtre sont si petits qu'ils ne laissent passer aucune particule plus grosse qu'une bactérie. Les grosses particules retenues sur le papier filtre constituent le résidu tandis que ce qui traverse le filtre s'appelle le filtrat.

II.3.2. Montage

Pour réaliser une filtration, il faut un filtre et un dispositif pour le soutenir: le porte-filtre. La plupart du temps on utilise un entonnoir.

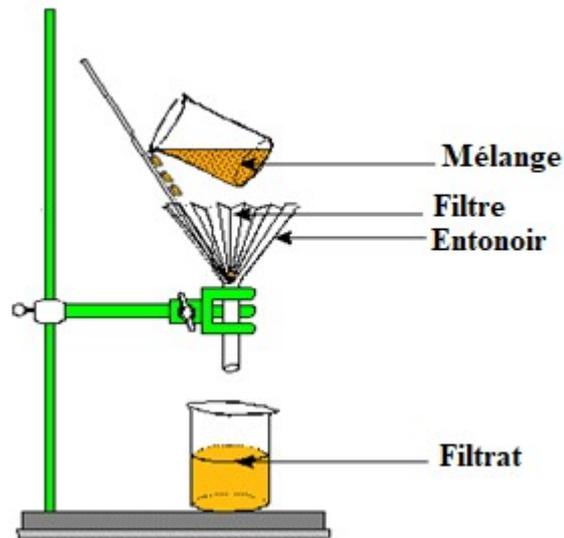


Figure 3: Montage de filtration par gravité.

- ✓ La filtration gravimétrique présente les inconvénients suivants:
 - La filtration est lente.
 - La difficulté de récupération de la phase solide est isolée surtout lorsqu'elle est peu abondante.
 - La séparation est incomplète: le solide retient une quantité non négligeable de liquide.

Cette méthode est généralement lente et ne permet pas une séparation optimale du solide et du liquide. Pour pallier ces inconvénients, une filtration sous vide est souvent utilisée.

II.4. Filtration sous vide

La vitesse de filtration est augmentée par la création d'une dépression en aval du matériau filtrant (**Fig. 4**). C'est le mode de filtration utilisé d'une manière courante pour les verres frittés et les membranes filtrantes. Des entonnoirs Büchner spéciaux adaptés sur une fiole à succion, dans laquelle on crée une dépression, sont utilisés. L'entonnoir est adapté sur la fiole par l'intermédiaire d'un cône en caoutchouc, Il s'agit d'un entonnoir en porcelaine ou en plastique qui collera à la fiole et l'entonnoir lorsque la dépression est établie.

Parfois le solide est constitué de particules trop fines qui risquent de passer à noirs à travers le filtre. Un entonnoir en verre fritté, sur lequel est versé directement le mélange, peut alors être utilisé. Différentes porosités de verre fritté existent, il convient de choisir celle qui est adaptée à la taille des particules de solide à filtrer.

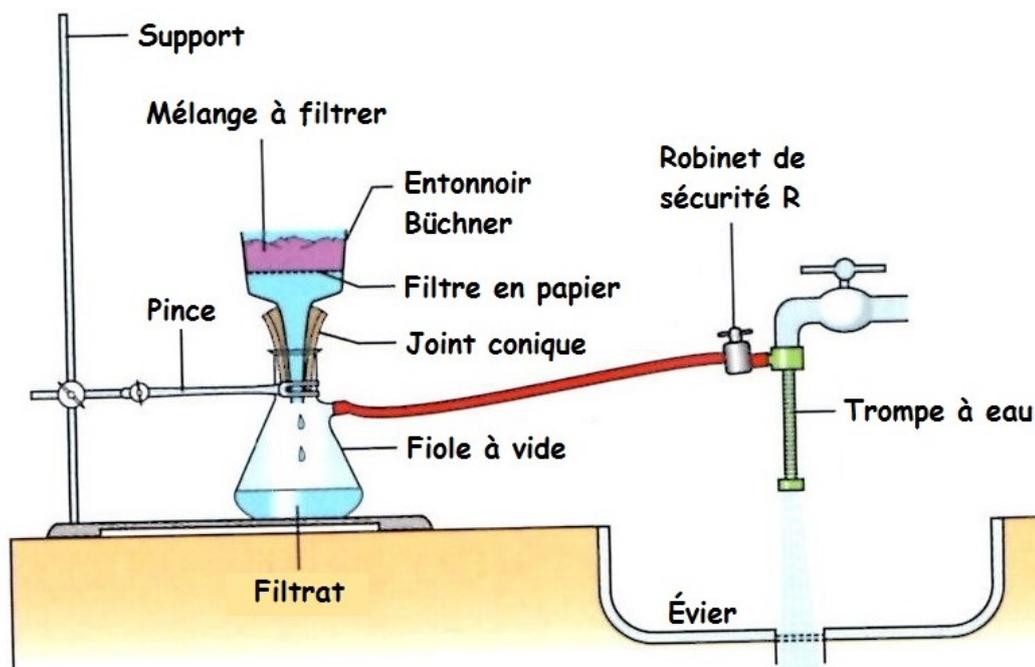


Figure 4: Schéma d'une filtration sous vide.

- *le filtre de type 'Büchner'*

En porcelaine, de forme cylindrique avec un tamis à gros trous, on place dessus un filtre circulaire en papier, suffisamment grand pour couvrir la totalité du tamis.

- *le filtre en verre fritté*

Il s'agit d'un entonnoir en verre qui contient un disque en verre fritté, de porosité fixée. On utilise ce type de filtre dans des conditions de pH extrêmes où le papier ne résisterait pas. Cependant, on ne pourra pas utiliser ce type de filtre avec des solutions d'acide fluorhydrique qui réagit avec la silice du verre.

II.5. Filtration sous pression

La vitesse de filtration est augmentée en exerçant une pression sur le liquide à filtrer en amont du matériel filtrant représenté par une membrane filtrante (**Fig. 5**). La filtration sous pression évite le moussage et l'évaporation du solvant; elle est d'un emploi fréquent dans l'industrie. Ce système de filtration sous pression avec membranes filtrantes existe également sous forme de cartouches filtrantes (millipore) adaptable sur une seringue pratique pour la filtration des petits volumes de solution à filtrer. Au laboratoire, la microfiltration stérilisante à l'aide du dispositif Swinnex Millipore est une filtration sous pression. Ce dispositif est constitué de deux pièces plastiques, que l'on visse l'une sur l'autre enserrant une membrane filtrante.



Figure 5: Filtration sous pression.

II.6. Réalisation d'une filtration

- La première étape est le choix d'un filtre adapté dont les mailles soient assez resserrées pour retenir les particules solides sans que le débit de l'écoulement ne soit pas trop réduit.
- Le filtre peut être disposé dans un entonnoir afin de faciliter la récupération du filtrat.
- Le mélange hétérogène à filtrer est versé lentement et par étape afin de ne pas endommager le filtre ou de le submerger. Le mélange peut par exemple être versé en le laissant s'écouler le long d'une baguette en verre.
- Le résidu solide est récupéré dans le filtre, si son obtention est l'objectif de la filtration alors il peut être mis à sécher dans une étuve.
- Le filtrat peut être récupérer dans un erlenmeyer

II.7. Exemples d'application

Fabrication de produits alimentaires à base de café:

Dans le processus de production, le café est transféré d'un réservoir à l'autre, pendant la **lyophilisation**. Au cours de cette étape, il est nécessaire d'enlever tout café aggloméré du système pour maintenir la qualité du produit et pour protéger la pompe. L'échelle et la conception de l'opération ont nécessité l'utilisation de dix **filtres** de transfert pour cette

application. Les **filtres** devaient être de conception hygiénique / sanitaire et résister à un traitement agressif (nettoyage par voie chimique).

III. Précipitation

Il existe des techniques plus complexes de séparation des mélanges, qui nécessitent l'ajout de réactifs pour initier une réaction chimique (la précipitation). La précipitation peut être utilisée afin d'extraire une espèce chimique particulière d'un mélange, l'espèce précipitée étant en suite filtrée.

Un certain nombre de paramètres peut servir à séparer un échantillon intéressant des impuretés en réduisant sa solubilité et désolidarisé de la solution sous forme de solide. Tout d'abord, la force ionique de la solution peut changer une solubilité de substances. Cela implique souvent l'ajout de sel supplémentaire (également appelé relargage), ou l'ajout d'un contre-ion, qui forme une espèce moins soluble avec le composé d'intérêt.

La précipitation est la création d'un solide à partir d'une solution. Lorsque la réaction se produit dans une solution liquide, le solide formé est appelé "**précipité**". Le produit qui provoque la formation du solide est appelé «**précipitant**».

III.1. Principe

La précipitation consiste à former une phase hétérogène au sein d'une autre phase. Si l'on suspecter la présence de certains ions dans une solution, nous pouvons ajouter un autre ion qui formera une substance solide avec eux. Ainsi, s'il y a effectivement présence de l'ion recherché, on verra apparaître une substance solide qu'on pourra par la suite filtrer et récupérer. La précipitation est un moyen de séparation des mélanges.

III.2. Schéma de précipitation

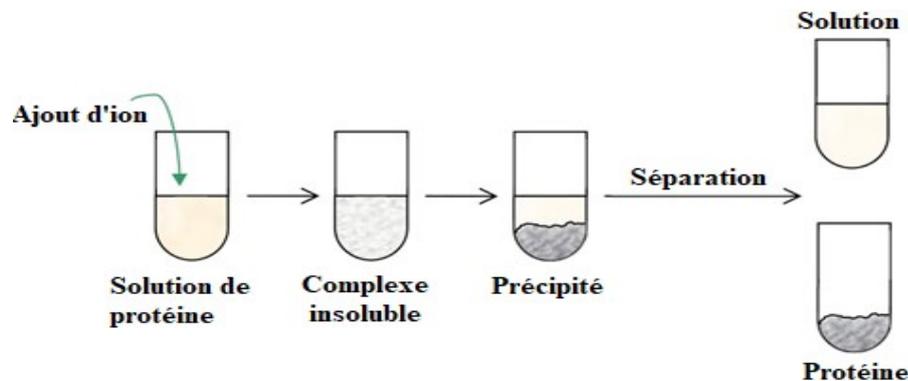


Figure 6: Protocole de précipitation

III.3. Précipitation en biochimie

La précipitation de biomolécules, particules ou cellules, leurs agrégats ou leurs complexes avec d'autres composés résulte d'une perte de solubilité et d'une augmentation de masse moléculaire ou pondérale (ex: formation de complexes antigènes/anticorps; agrégation de cellules; association de particules et cellules). Elle peut aussi résulter d'un changement de la composition du milieu, ou des caractéristiques des biomolécules.

- la protéine: en modifiant le pH du solvant; de manière générale, les protéines précipitent lorsque le pH de la solution est égal au pI (point isoélectrique) de la protéine: les protéines formeront des agglomérats qui précipiteront.

- La solution d'ADN, portée à haute force ionique par addition de NaCl est additionnée d'un large excès d'éthanol absolu à - 20°C. Au bout de quelques minutes au maximum, on voit apparaître un précipité blanchâtre, translucide et filamenteux (la «méduse») constitué de longs filaments d'ADN précipité.

III.4. Exemple d'application

Précipitation des protéines du lait:

1. Versez le lait dans un bol.
2. Chauffé le lait doucement jusqu'à 40 °C dans une plaque de cuisson en remuant. Ne pas chauffer à plus de 40 °C.
3. Préparer un 15 % (v/v) d'acide acétique en mélangeant 7,5 mL d'acide acétique et diluer dans l'eau jusqu'à 50 ml.
4. Ajoutez l'acide acétique goutte-à-goutte au lait jusqu'à atteindre un pH de 4,6.
5. Filtration du lait ou centrifugation du lait (comme alternative à la filtration)
6. Resuspendre le culot dans un tampon pour approfondir l'analyse, sinon conserver à 4 °C.

IV. Extraction

Les extractions sont parmi les méthodes les plus utilisées en analyse pour séparer les mélanges. Cette technique utilise un moyen pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de propriétés chimiques ou physiques. Le moyen d'extraction n'est pas ou peu miscible avec les composants principaux du mélange alors que le composé à extraire possède plus d'affinité avec le moyen d'extraction qu'avec les composants principaux du mélange. L'opération d'extraction se compose dès lors de 2 parties: une

première phase d'extraction proprement dite où on assiste à un transfert du composé à extraire entre le mélange initial et le moyen d'extraction.

L'évolution des techniques est motivée par la diversité des matières premières et par l'optimisation des conditions d'échange entre phases tout en cherchant à minimiser la consommation de solvant. C'est au cours du 18^{ème} siècle que commence l'utilisation de solvant organique pour l'extraction des matières naturelles.

IV.1. Définition

L'extraction est une opération ancienne utilisée pour retirer des plantes et de certains organes d'animaux, des produits alimentaires, pharmaceutiques ou odoriférants, sous formes de breuvages, drogues ou parfums. Les solvants utilisés dans ces procédés de séparation des produits végétaux sont généralement l'eau, les alcools, les solvants organiques et/ou chlorés, etc.

L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre:

- D'une phase liquide à une autre phase liquide.
- D'une phase solide à une phase liquide.

C'est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme (animal ou végétal) selon diverses techniques.

IV.3. Principe

L'extraction consiste à traiter un mélange homogène ou non de liquides ou de solides par un solvant pur dans le but d'en extraire un constituant solide ou liquide.

L'opération d'extraction se déroule en deux parties:

- une première partie de transfert du composé à extraire entre le mélange initial et le moyen d'extraction
- une deuxième partie de séparation du moyen d'extraction du mélange principal.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction:

- Extraction liquide – liquide (**Liq – Liq**)
- Extraction solide – liquide (**Sol – Liq**)

IV.4. Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est l'une des techniques de préparation d'échantillons les plus anciennes. C'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles, sans transfert de chaleur. Cette technique permet d'extraire une substance dissoute dans un solvant, à l'aide d'un autre solvant, appelé **solvant d'extraction**, dans lequel elle est plus soluble. Le solvant initial et le solvant d'extraction ne doivent pas être miscibles.

IV.4.1. Principe

Du fait que l'eau ne s'évapore pas facilement, l'espèce chimique est difficilement récupérable si elle est en solution dans l'eau. Dans ce cas, il faut utiliser un solvant organique dans lequel la substance est très soluble (beaucoup plus que dans l'eau), celle-ci va passer de l'eau au solvant organique. Il faut que l'eau et le solvant organique ne soient pas miscibles.

- Il existe deux types d'extraction liquide-liquide:

- **Extraction discontinue:** L'extraction liquide-liquide discontinue s'effectue par l'agitation vigoureuse du solvant et de la solution à extraire dans une ampoule à décanter.
- **Extraction continue:** Pour l'extraction continue, la solution à extraire est alimentée par un solvant pur recyclé en continue par distillation.

IV.4.2. Protocole d'extraction

1- On introduit la solution à extraire et le solvant d'extraction dans l'ampoule.

2- Après avoir bouché l'ampoule, on la tient retournée, à deux mains, et on agite énergiquement. Pour extraire le soluté de façon optimale, il faut atteindre l'équilibre de partage précédent.

3- Il faut déboucher l'ampoule lorsqu'on la repose sur son support, toujours pour éviter une surpression. On doit ensuite laisser décanter les phases.

4- On récupère ensuite les deux phases séparément: la phase aqueuse est en générale plus dense que les phases organiques, à l'exception des solvants chlorés.

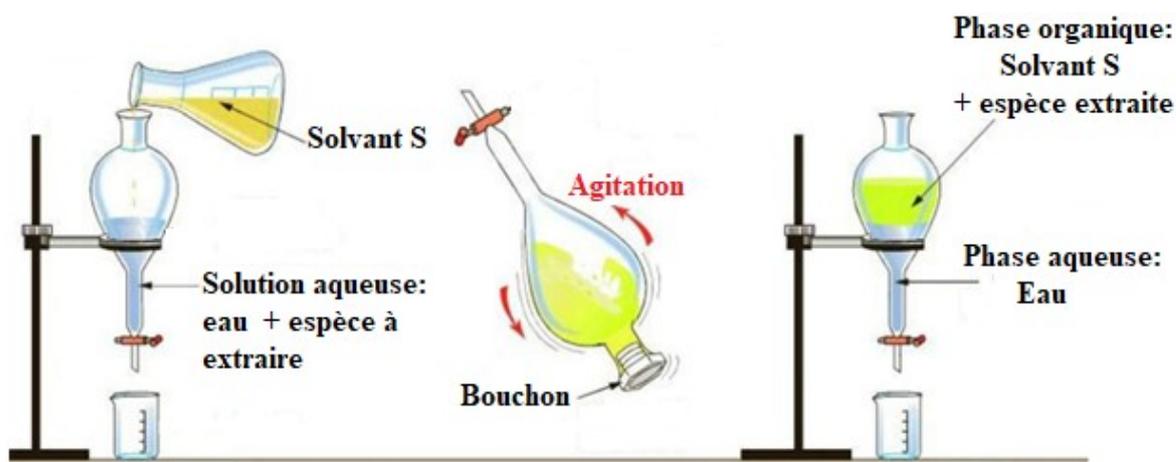


Figure 7: Schéma d'extraction liquide-liquide

IV.5. Extraction solide-liquide

Historiquement, l'extraction solide-liquide appelée aussi l'extraction par solvant est l'une des opérations unitaires les plus anciennes. Accomplie couramment à la maison où elle s'apparente directement à la réalisation du café quotidien, elle est aussi très employée en industrie particulièrement en hydrométallurgie (dissolution sélective de minerais ou lixiviation) et dans l'industrie agroalimentaire et des cosmétiques (sucre de betteraves, huiles, essence naturelles.....).

L'extraction solide-liquide est une technique d'extraction par solvant qui consiste à extraire une espèce chimique se trouvant dans un solide pour la transférer dans un solvant choisi judicieusement. Ce type d'extraction se réalise à l'aide d'un montage chauffage à reflux.

L'extraction solide-liquide pose un problème particulier: en règle générale, un solide ne se laissera pas traverser par un liquide. Il est donc nécessaire de réaliser un grand nombre d'extractions successives. On utilise pour cela un extracteur de Soxhlet, ou alors sa variante plus économique.

L'extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide liquide avec une grande efficacité. L'appareil porte le nom de son inventeur: Franz von Soxhlet. Le Soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Les avantages du Soxhlet sont les suivants: l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction. Le Soxhlet est indépendant de la matrice végétale.

IV.5.1. Principe

L'appareil est constitué de:

- Un ballon contenant une réserve de solvant.
- Un appareil (l'extracteur proprement dit) permettant le contact entre le solvant et le solide dans une cartouche poreuse et l'évacuation de la solution vers le ballon par un siphon.
- Un réfrigérant à eau permettant de condenser les vapeurs de solvant dans la cartouche poreuse.

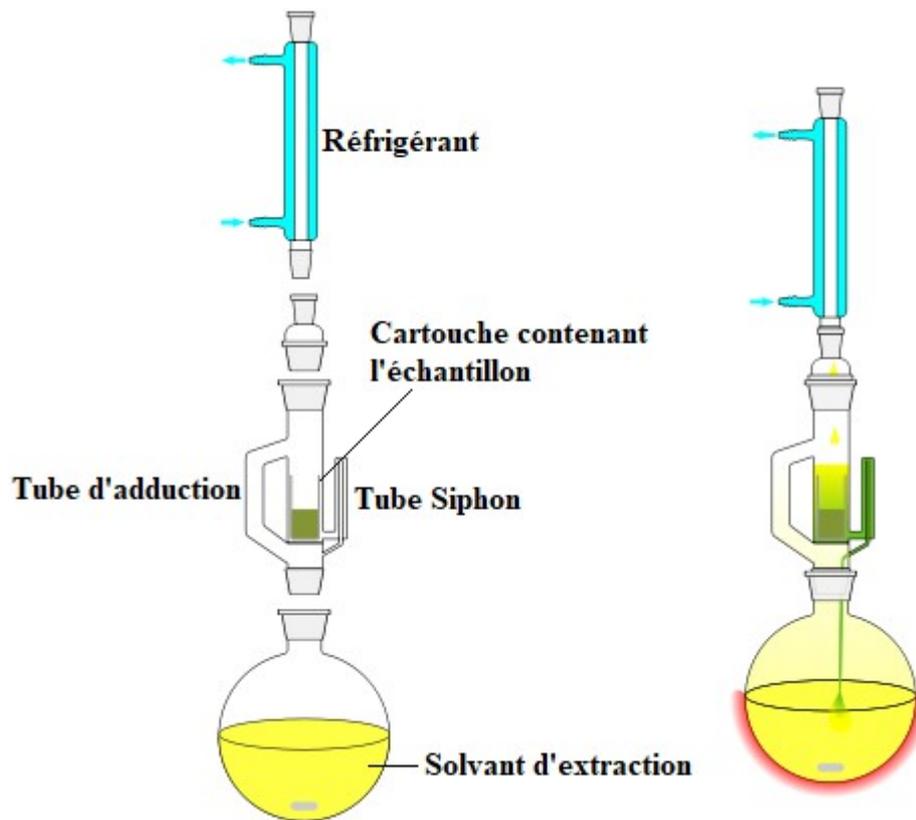


Figure 8: Schéma d'un appareil de Soxhlet.

Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes consistant toutes à faire interagir le solvant sur le matériau solide afin de dissoudre ses composants solubles:

IV.5.2. Extraction discontinue

Les méthodes liées à l'extraction discontinue sont multiples:

- **La décoction:** est l'opération dans laquelle le solide est plongé dans le solvant liquide mis en ébullition. Il s'agit d'une opération brutale qui doit être réservée à l'extraction de principes actifs non thermolabiles. Elle est cependant très rapide et parfois indispensable.
- **L'infusion:** est une décoction durant laquelle le solvant est chauffé sans être mis en ébullition, suivie du refroidissement du mélange. La préparation du thé est l'exemple type de cette opération.
- **La macération:** est une infusion dans un solvant à froid. L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, est la seule méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles. la macération peut être opérée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et dans certains cas, maintenue dans un réfrigérateur.
- **La digestion:** est une macération à chaud. Cette opération et la macération sont utilisées particulièrement en pharmacie et en parfumerie. Il s'agit là d'une opération plus rapide que la précédente.

IV.5.3. Extraction continue

L'extraction continue est une méthode beaucoup plus longue que l'extraction discontinue, mais plus efficace.

- **Percolation:** elle consiste à faire passer lentement un solvant à travers une couche de substance finement pulvérisée, habituellement contenue dans une cartouche de papier poreux et épais ou une pochette de papier filtre.

IV.5.4. Protocole d'extraction

- 1- La matière à extraire est pesée et ensuite mise dans la cartouche du Soxhlet.
- 2- Le solvant est introduit dans le ballon puis chauffé pour démarrer l'extraction.
- 3- L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide.

IV.6. Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à distiller un composé par entraînement à la vapeur d'eau. L'hydrodistillation est la méthode la plus utilisée pour **extraire** des huiles essentielles. Elle montre ses limites lorsque les molécules à extraire sont fragiles et ne résisteront pas au chauffage.

IV.6.1. Principe

La matière première aromatique naturelle est mise dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Sous l'action de la chaleur, les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes qui sont entraînées par la vapeur d'eau formée. Elles passent dans un réfrigérant pour y être condensées par refroidissement. La séparation de l'eau et de l'huile essentielle se fait par différence de densité dans une ampoule à décanter. L'eau décantée appelée distillat reste très parfumée. Le distillat obtenu à partir des fleurs se nomme eau florale.

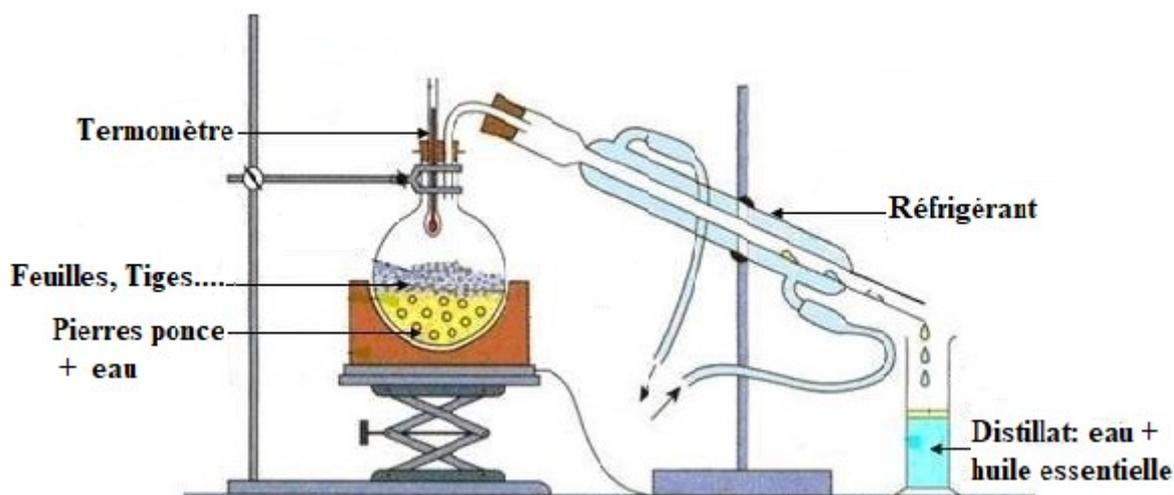


Figure 9: Schéma d'un montage d'hydrodistillation

IV.6.2. Exemple d'application

Extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de l'écorce d'orange

- ✓ Une orange doit être pelée (seul le zeste de l'écorce doit être pris sans la partie blanche) et découpée en petit morceaux.
- ✓ Ensuite, introduit les morceaux d'écorce d'orange dans un ballon avec un peu d'eau déminéralisée et quelques grains de pierre ponce. Démarrer la circulation d'eau froide du réfrigérant puis le chauffage (thermostat au maximum au début puis ajuster par la suite)
- ✓ Laisser chauffer le mélange pendant à peu près 30 minutes tout en surveillant la température d'ébullition aux alentours de 100 °C grâce au thermomètre. Sous l'effet de la chaleur, les cellules de l'écorce d'orange éclatent et libèrent des composés organiques volatils.
- ✓ La vapeur d'eau formée entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant.

✓ La condensation de ce mélange gazeux provoque sa séparation en deux phases liquides:

- la phase organique supérieure, huileuse et très odorante, appelée huile essentielle.

C'est cette partie qui contient le limonène dont on a besoin

- la phase aqueuse inférieure qui elle ne contient qu'une minorité de composants odorants.

- Pour obtenir seulement la partie huileuse, on peut procéder à une décantation pour séparer les deux phases non miscibles grâce à une ampoule à décanter.

V. Techniques chromatographique

La **chromatographie** est une méthode séparative qui permet l'identification et le dosage des différents composés d'un mélange. Le principe est basé sur les différences d'affinité des composés du mélange avec la phase stationnaire et la phase mobile. Le chromatogramme traduit la variation du soluté dans l'éluant en fonction du temps. Le terme de chromatographie recouvre donc plusieurs technologies basées sur un principe commun: l'identification par la séparation.

Nous avons à retenir avant tout que: **Chromatographie = Séparation.**

Il existe différents types de chromatographie suivant la méthode de séparation utilisée:

- la chromatographie en couche mince (**CCM**).
- la chromatographie en phase gazeuse (**CPG**).
- la chromatographie en phase liquide à haute performance (**HPLC**).

Les différentes techniques exposées ci-dessus sont très différentes sur le plan technologique mais ont de nombreux points communs sur le principe de fonctionnement.

Elles sont différentes quant au matériel utilisé. Une CCM nécessite une feuille de papier, un solvant et une cuve en verre. La CPG, ou la HPLC nécessite des appareils de technologies poussées de coût élevé.

V.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographiques. Elle consiste à placer sur une feuille (papier, silice ou autre....) une tache et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant

(appelé **éluant**), l'éluant diffuse le long du support. La tache migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant.

V.1.1. Principe

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.

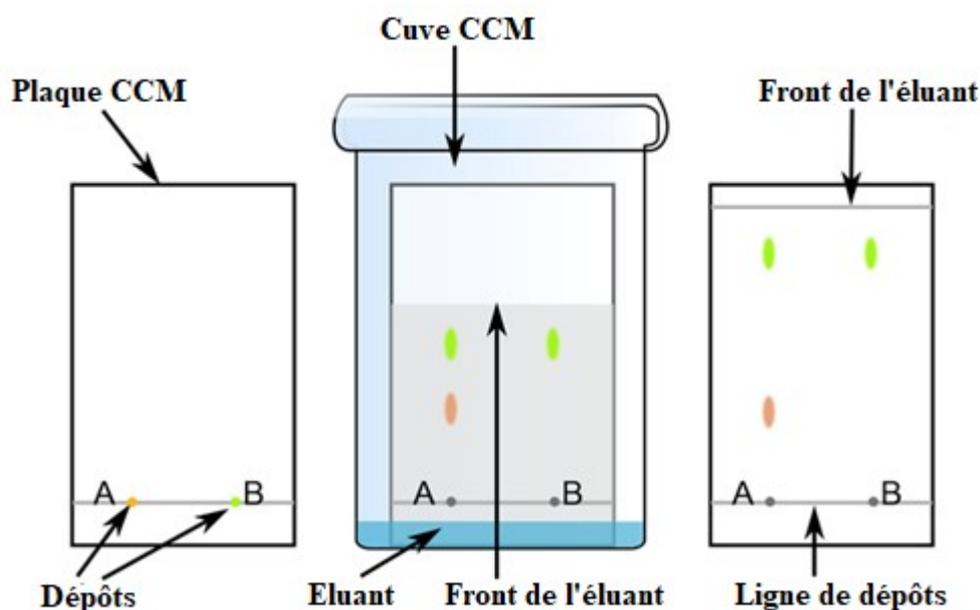
Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'absorption.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont:

- **la cuve chromatographique:** un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- **la phase stationnaire:** une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme l'amidon.
- **l'échantillon:** environ un microlitre (ml) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposer en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- **l'éluant (phase mobile):** un solvant pur ou un mélange: il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon.

Après migration les taches doivent être révélées; c'est la détection qui peut se faire soit:

- Pulvérisation d'un réactif caractéristique
- Par immersion dans un bain de permanganate de potassium
- Par pulvérisation de vapeur de diiode
- Par observation à la lumière Ultra-Violet (UV) si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence.



Les points colorés sont les dépôts d'échantillons

Figure 10: Schéma d'une CCM

V.1.2. Applications de la CCM

Lorsque les conditions opératoires sont connues, elle permet un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé organique. Si l'analyse, réalisée avec divers solvants et différents adsorbants, révèle la présence d'une seule substance, on peut alors considérer que cet échantillon est probablement pur.

De plus, étant donné que la chromatographie sur couche mince indique le nombre de composants d'un mélange, on peut l'employer pour suivre la progression d'une réaction.

V.1.3. Exemple d'application

Chromatographie des sucres

Vérification de la présence de 3 glucides (glucose, maltose et saccharose) dans un jus de fruit.

- Solutions de glucose, maltose et saccharose
- Jus de fruit (jus d'orange)
- A l'aide d'un tube capillaire, déposer une très petite goutte de chaque solution préparée ainsi que le jus d'orange sur la plaque de chromatographie.
- Insérer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant 0.5 cm d'éluant.
- Retirer la plaque quand l'éluant est à environ 1 cm du bord supérieur de la plaque.

On a observé des tâches lors de la migration des dépôts de glucose et saccharose similaires aux tâches de l'orange, et l'absence de la tache du maltose par rapport au jus d'orange. Nous en déduisons donc que le jus d'orange contient du saccharose et du glucose.

V.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

C'est une méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est une chromatographie de partage dans laquelle la phase mobile est un gaz. Elle constitue la méthode la plus puissante et la plus fine pour séparer, identifier et quantifier les corps gazeux ou volatilisables. Elle permet ainsi l'analyse de mélanges éventuellement très complexes dont les constituants peuvent différer de façon considérable par leur nature et leur volatilité.

V.2.1. Principe

La CPG repose sur l'équilibre de partage des analytes entre une phase stationnaire et une phase mobile gazeuse. La séparation des analytes repose sur la différence d'affinité de ces composés pour la phase mobile et pour la phase stationnaire.

Le mélange à analyser est vaporisé puis transporté à travers une colonne renfermant une substance liquide ou solide qui constitue la phase stationnaire. Le transport se fait à l'aide d'un gaz inerte, appelé gaz vecteur (le plus souvent He ou N₂), qui constitue la phase mobile.

On obtient un chromatogramme où apparaissent des pics d'intégration proportionnelle à la quantité de produit injecté. Le pic est caractérisé par son temps de rétention, porté en abscisse (fig.11).

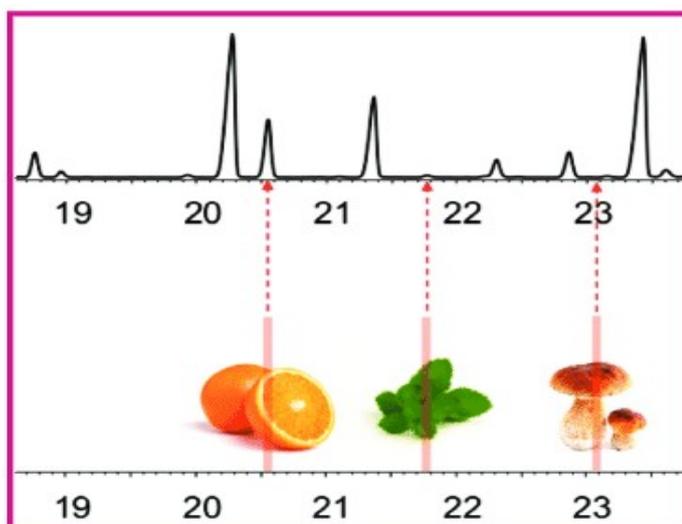


Figure 11: Exemple d'un chromatogramme de mélange des aliments

V.2.2. Appareillage

L'appareil utilisé pour réaliser une analyse par chromatographie en phase vapeur est appelé chromatographe. Un appareil de chromatographie en phase gazeuse comporte trois parties: un injecteur, une colonne et un détecteur, comme indiqué sur le schéma ci-dessous:

- **Injecteur:** Il permet d'introduire un liquide qui doit être vaporisé instantanément avant d'être transféré dans la colonne.
- **Colonne:** C'est l'organe principal. Elle est constituée d'un tube généralement métallique de diamètre intérieur de l'ordre du millimètre.
- **Détecteur:** Il permet de mettre en évidence le passage des différents gaz séparés par la colonne. La détection peut être basée sur des techniques de mesures différentes. Le détecteur le plus utilisé en CPG est celui à conductibilité thermique appelé catharomètre.

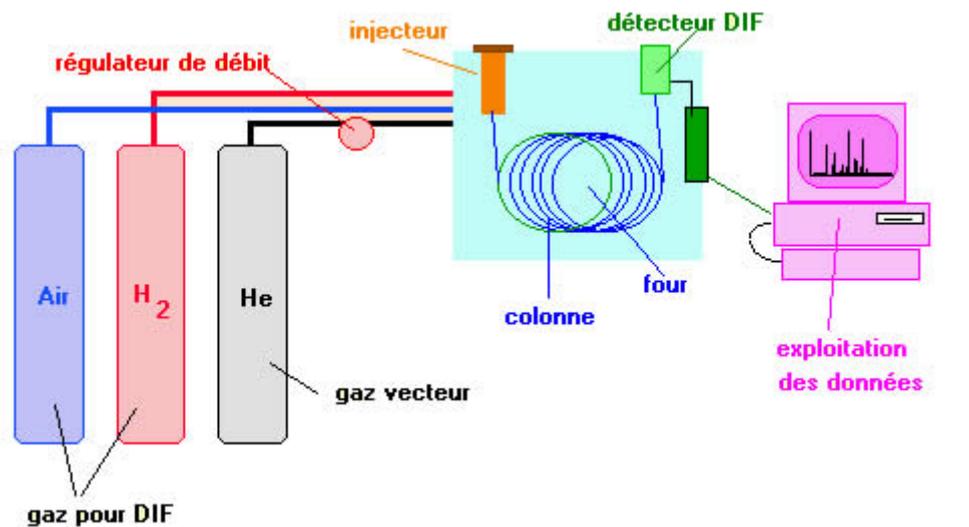


Figure 12: Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse

V.2.3. Utilisation de la CPG

➤ *Dosage en toxicologie:*

- Recherche de toxique en intoxication aiguë (méthanol, EG...)
- Dosage des drogues: amphétamines, opiacés, cannabinoïdes
- Contrôle anti-dopage
- Dépistage de toxicomanie

➤ *Agroalimentaire:*

- Recherche et dosage des pesticides

- Recherche et dosage des nitrosamines (nitrites)

V.2.4. Exemple d'application

Détection des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) dans les corps gras d'origines animales et végétales, la méthode est basée sur le fait que des esters méthyliques sont formés par transméthylation avec une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium. À l'aide de la chromatographie en phase gazeuse, les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) sont séparés sur une phase stationnaire hautement polaire en fonction de leur longueur de chaîne, de leur degrés de saturation/d'insaturation et selon la configuration et la position des doubles liaisons.

V.3. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

C'est une technique de séparation analytique de molécules présentes dans un mélange. Sa grande précision permet la recherche de traces. La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse. Cette forme de chromatographie est fréquemment utilisée en biochimie et en toxicologie.

V.3.1. Principe

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. C'est ce que l'on a appelé la chromatographie liquide sous haute pression (HPLC).

Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

Le signal du détecteur est amplifié et enregistré, la température du four est maintenue constante.

Quatre types sont couramment employés en fonction de la nature de la phase stationnaire.

- Chromatographie d'adsorption
- Chromatographie de partage: c'est la plus utilisée des techniques avec une phase stationnaire apolaire
- Chromatographie d'échange d'ions
- Chromatographie d'exclusion: également appelée à "perméation de gel".

V.3.2. Appareillage

Schéma du principe du fonctionnement du chromatographe en phase liquide haute performance (HPLC).

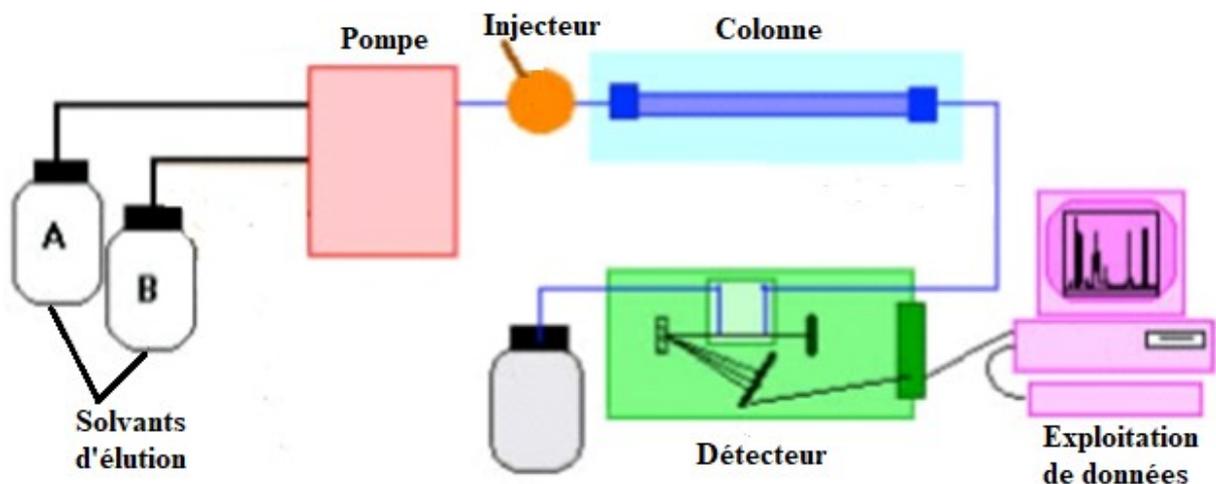


Figure 13: Schéma d'un système d'HPLC

V.3.3. Domaine d'application

L'HPLC est utilisée dans la détection de multiples résidus d'antibiotiques de quinolone, de sulphonamide, de β -lactamine, de macrolide, de tétracycline, et ce, dans des types d'échantillons très variés tels que le lait ou les tissus musculaires.

VI. Techniques électrophorétiques

L'électrophorèse est utilisée pour vérifier la pureté d'une fraction chromatographique et pour déterminer la masse moléculaire d'une protéine inconnue à l'aide des protéines standards.

VI.1. Principe

L'électrophorèse est une technique permettant de déplacer des ions (molécules ayant perdu leur neutralité électrique) sous l'effet d'un champ électrique. Ceux-ci migrent vers leur électrode respective: Les anions migrent vers l'anode et les cations migrent vers la cathode. Pour les molécules non chargées, il n'existe pas de migration. Du fait de leurs caractéristiques propres et des conditions de l'électrophorèse, la vitesse de migration et la distance parcourue dans la matrice par ces différents ions, ce qui permet leur séparation.

VI.2. Types d'électrophorèse

L'électrophorèse peut être en des conditions non dénaturantes ou en des conditions dénaturantes.

VI.2.1. Electrophorèse en des conditions non dénaturantes

Les molécules sont séparées dans leur état le plus proche possible de leur état natif. La vitesse de migration dépend de la charge native de la molécule et de sa structure tridimensionnelle.

VI.2.2. Electrophorèse en des conditions dénaturantes

Les molécules sont soumises à un traitement dénaturant avant la séparation électrophorétique, détruisant la structure tridimensionnelle native. La séparation est donc en fonction de la masse moléculaire. Les agents de dénaturation sont le SDS (Sodium Dodécyl Sulfate) et le β -mercaptoéthanol qui réduit les ponts disulfures des protéines. Le SDS est un dénaturant doux et un surfactant, il agit sur les protéines de plusieurs façons:

- Si la protéine est oligomérique, ses sous unités sont séparées les unes des autres.
- Il se fixe sur les protéines, les tapissant de charge négative. Les protéines transformées en manopolyanions, possèdent toutes la même mobilité électrophorétique. La charge négative globale permet la migration vers l'anode, mais les molécules sont séparées uniquement en fonction de leur masse moléculaire. Selon le support électrophorétique, il existe deux types d'électrophorèse:

VI.2.2.1. Electrophorèse en veine liquide (électrophorèse libre)

Il s'agit de la première méthode électrophorétique décrite. La solution échantillon est placée dans un tube en U et recouverte d'une solution tampon de densité plus faible que celle de l'échantillon pour éviter les courants de convection. Les électrodes sont placées dans le

tube où l'on applique le champ électrique. La migration dans ce cas s'effectue au sein d'un liquide constitué par une solution tampon de pH et de concentration convenable dont les ions conduisent le courant d'un pôle à un autre. Ce type de d'électrophorèse présente de multiples inconvénients (Appareillage couteux, mise en œuvre longue et délicate, séparation incomplète des particules).

VI.2.2.2. Electrophorèse de zone sur support

Les mobilités obtenues en ce type d'électrophorèse sont plus faibles que celles de l'électrophorèse en veine liquide. Ce type utilise un support poreux stabilisant la phase liquide. Le mélange à séparer est déposé sur un support convenable, homogène, poreux, inerte et imprégné de tampon. Ce support peut être du papier, un dérivé de cellulose, de l'amidon, de l'agarose, du polyacrylamide (PAGE), etc. Les différents types d'électrophorèse de zone sont souvent nommés en fonction du type de support (papier, ester de cellulose, gel, etc.).

Electrophorèse sur papier, sur acétate de cellulose, sur gel (amidon, agar, agarose, polyacrylamide). Les fractions séparées par électrophorèse de zone migrent comme des zones individuelles. La taille des pores pour le support en gel peut influencer la vitesse de migration (ralentissement du déplacement des grosses molécules).

VI.3. Appareillage d'électrophorèse

L'appareillage usuel est constitué de:

- Un générateur du courant continu stabilisé relié aux électrodes de la cuve. Ce courant crée un champ électrique qui va permettre de faire migrer les molécules.
- Une cuve d'électrophorèse fermée (horizontale ou verticale) et éventuellement thermostatée comportant deux compartiments. Chaque compartiment est rempli du tampon de migration.
- Des accessoires comme le support d'électrophorèse, les plaques de verre pour couler le gel et les peignes pour creuser des puits dans le gel, dans lesquels les composés à analyser seront déposés.

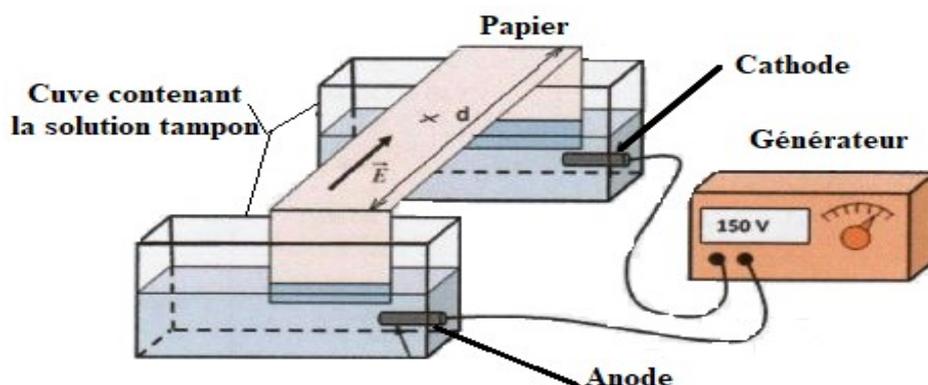


Figure 14: Appareillage d'électrophorèse.

VI.4. Exemple d'application

L'électrophorèse des protéines sériques permet la séparation des protéines du sang, sous l'influence d'un champ électrique. Elle permet de mettre en évidence des protéines anormales et de détecter une augmentation ou une baisse anormale de protéines dans le sang. L'augmentation de certaines protéines peut indiquer un syndrome inflammatoire. Cette dernière est réalisée grâce à un prélèvement sanguin, en général au pli du coude. Le sérum est ensuite déposé sur acétate de cellulose ou sur gel d'agarose. Les protéines migrent sous l'influence d'un champ électrique de la cathode vers l'anode.

VII. Séparation par membrane

Les opérations de séparation par membrane forment une classe assez large de techniques s'appliquant aux séparations liquide/liquide, gaz/liquide, solide/liquide ou encore gaz/gaz. Les procédés à membranes ont connu un rapide développement dans quelques secteurs particuliers. Actuellement de nouvelles applications apparaissent grâce aux progrès réalisés pour l'élaboration de membranes mieux adaptées et pour l'amélioration de la conception des appareils.

VII.1. Principe

Une **membrane** est une barrière matérielle (film polymère, céramique ou, rarement, métallique) qui permet le passage sélectif de certains composés du fluide à traiter, sous l'action d'une force agissante: gradient de pression, de potentiel électrique ou de potentiel chimique.

Les procédés à membranes sont utilisés pour séparer et surtout concentrer des molécules ou des espèces ioniques en solution et/ou pour séparer des particules ou des microorganismes en suspensions dans un liquide selon leur taille et leur charge.

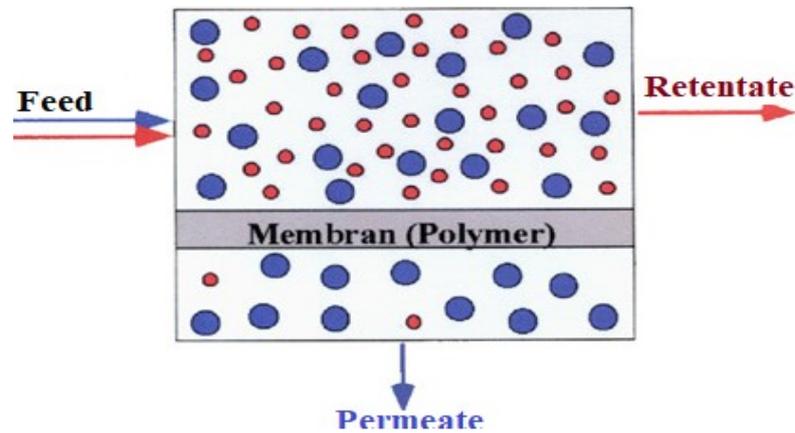


Figure 15: principe de fonctionnement de séparation membranaire

VII.2. Microfiltration

La microfiltration tangentielle peut être définie comme un procédé de séparation solide liquide qui met en œuvre des membranes dont les diamètres de pores sont compris entre 0,1 et 10 μm . Ce procédé permet donc la rétention des particules en suspension, des bactéries, indirectement des colloïdes et de certains ions après fixation de ces derniers sur des particules plus grosses obtenues par complexation, précipitation ou floculation.

Une pression de filtration comprise entre 0,5 et 3 bars, un flux de l'ordre de 200 à 450 $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ et une vitesse de l'eau d'environ 3 m/s sont les paramètres moyens de fonctionnement. Les particules d'un diamètre supérieur à celui des pores sont arrêtées par criblage. Un colmatage progressif se développe. Le dé-colmatage est très difficile. En général, une préfiltration à un seuil d'environ 500 μm , est nécessaire pour éviter toute détérioration prématurée des membranes. La microfiltration est adaptée pour le traitement des eaux souterraines à forte turbidité occasionnelle telles que les eaux karstiques.

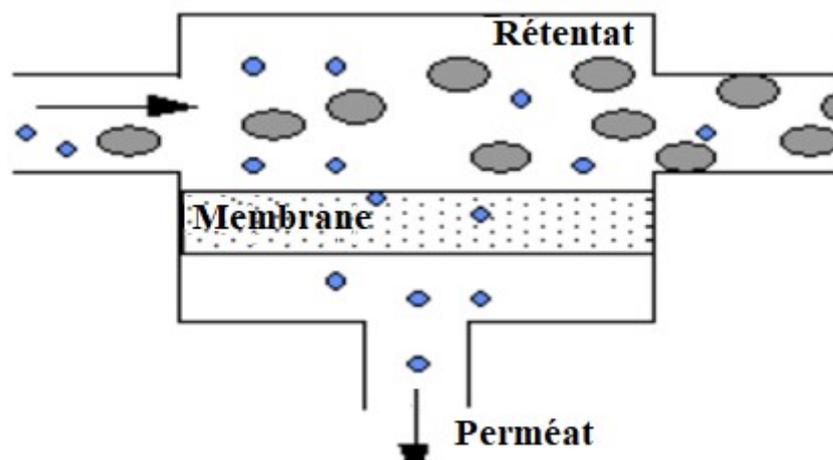


Figure 16: Schéma de microfiltration

La microfiltration se substitue efficacement à l'étape de clarification. La réduction de turbidité, la microfiltration minérale et des germes sont remarquables. Par contre l'élimination des virus, des pesticides et des sous-produits d'oxydation n'est pas du domaine de la microfiltration.

VII.2.1. Exemple d'application

Une grande application publique de cette fonction de la microfiltration est le lait « *Marguerite* » distribué par certaines grandes surfaces dont la longue conservation est obtenue par réduction bactérienne par microfiltration, alors que les propriétés nutritionnelles et organoleptiques du lait sont préservées en réduisant les phases de chauffage à leur minimum.

VII.3. Ultrafiltration

Cette technique utilise des membranes microporeuses. La porosité de membrane est comprise entre 0,5 et 0,002 μm . La pression de service est en moyenne de 0,5 à 10 bars et la vitesse tangentielle de l'eau est 1 m/s. Les ions sont en partie retenus en amont de la membrane, ce qui provoque une polarisation de concentration et un colmatage.

L'ultrafiltration permet la rétention de la totalité des particules en suspension, des colloïdes, protéines, polymères et des micro-organismes, y compris les virus. L'ultrafiltration n'élimine pas les micropolluants organiques s'il n'y a pas d'association du charbon actif en poudre (CPA). L'injection du CAP se situe dans la boucle de circulation. Les taux de traitement sont compris entre 10 et 20 g. m^{-3} . Généralement, les membranes utilisées sont en polysulfone, matériau qui autorise une température d'utilisation de 80 à 121 °C. La membrane peut être sous forme tubulaire ou spiralée comme les membranes d'osmose. Un rétro lavage horaire et un dé-colmatage chimique tous les trois mois sont recommandés. Les applications sont multiples:

- Concentration de solutions macromoléculaires (protéines, polysaccharides, polymères variés)
- Elimination de macro solutés présents dans les effluents ou dans l'eau à usage domestique.

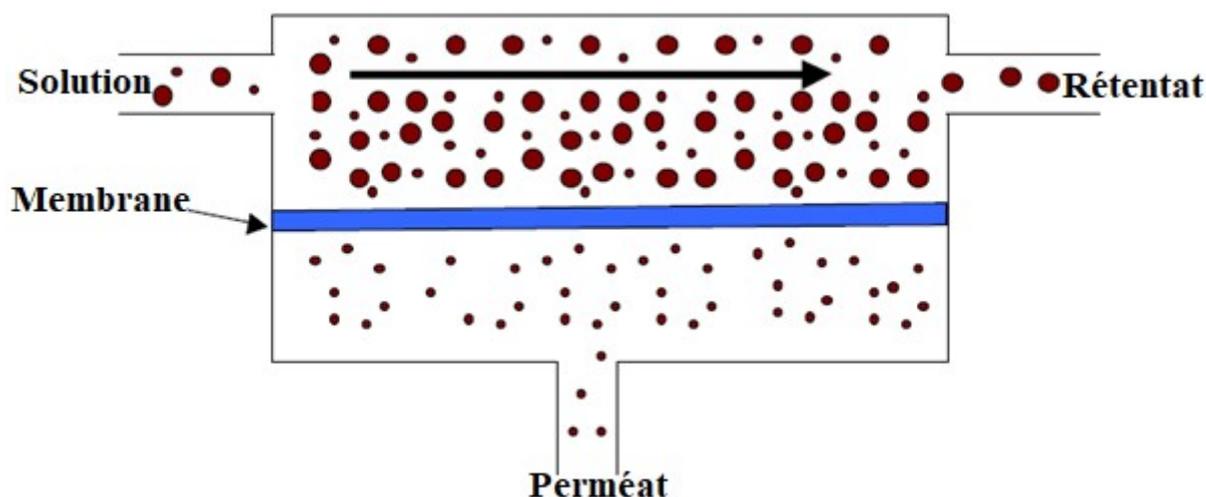


Figure 17: Principe de l'ultrafiltration

VII.4. Nanofiltration

Nanofiltration (NF) est le terme utilisé pour désigner une nouvelle technique séparative à membranes se situant entre l'osmose inverse et l'ultrafiltration. Elle permet la séparation de composants ayant une taille en solution voisine de celle du nanomètre. Les sels ionisés monovalents et les composés organiques non ionisés de masse molaire inférieure à environ 300 g/mol ne sont pas retenus par ce type de membrane. Les sels ionisés multivalents (Calcium, Magnésium, Aluminium, Sulfates....) et les composés organiques non ionisés de masse molaire supérieure à environ 300 g/mol sont, par contre, fortement retenus.

Ce type de membrane est très efficace pour éliminer les petites molécules dissoutes telles que les pesticides, les acides humiques et fulviques précurseurs d'organochlorés et le carbone organique dissous biodégradable. Le passage global en sels est de 30 à 60 % pour les ions monovalents et de 5 à 15 % pour les bivalents. Ce procédé est surtout utilisé en potabilisation ou dans les chaînes de traitement des eaux résiduaires. Il est à ce jour peu utilisé pour la production d'eau ultra pure.

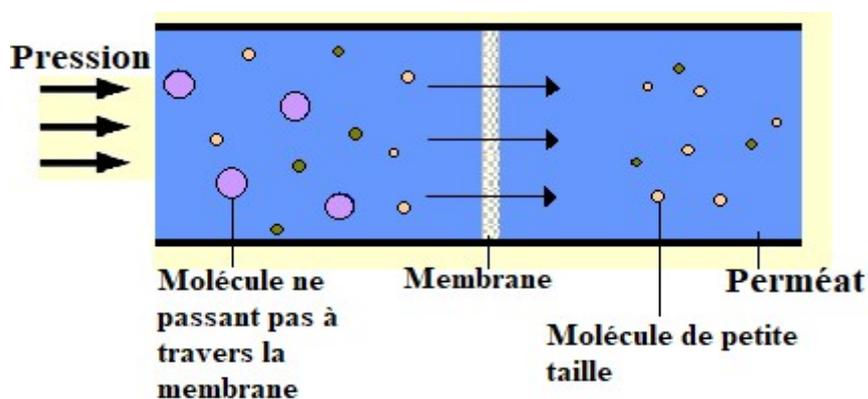


Figure 18: Principe de nanofiltration

VII.4.1. Domaine d'application

D'une manière générale, la séparation par nanofiltration des sucres simples (fructose, glucose et galactose), des oligo-polyfructoses, des acides aminés, des peptides courts, des antibiotiques permettent d'envisager leur valorisation en alimentation spécialisée. La nanofiltration a été surtout utilisée dans l'adoucissement de l'eau.

VII.5. Osmose inverse

L'osmose inverse (**OI**) est un procédé déjà ancien qui met en œuvre des membranes denses qui ne laissent passer que le solvant et qui arrêtent tous les sels. La séparation solvant-soluté se fait par un mécanisme de solubilisation-diffusion: le solvant s'adsorbe dans la phase membranaire puis diffuse à travers le matériau. La pression appliquée doit être supérieure à la pression osmotique exercée en amont de la membrane par la solution filtrée pour observer un flux de perméat à travers la membrane. Les pressions appliquées varient de 20 à 80 bar.

Les membranes d'osmose inverse (membranes denses) peuvent retenir les ions monovalents par un mécanisme différent qui fait appel à la solubilisation et la diffusion. Celui-ci considère que le taux de transmission d'un soluté à travers une membrane d'osmose inverse résulte d'un processus dans lequel le soluté se solubilise dans la phase membranaire puis diffuse à travers celle-ci pour rejoindre le compartiment perméat. Les principales applications industrielles de l'osmose inverse sont les suivantes:

- Dessalement d'eau de mer et d'eaux saumâtres
- Elimination de pesticides et d'herbicides
- Production d'eau ultra pure (industrie électronique, pharmaceutique...)
- Concentration d'antibiotiques

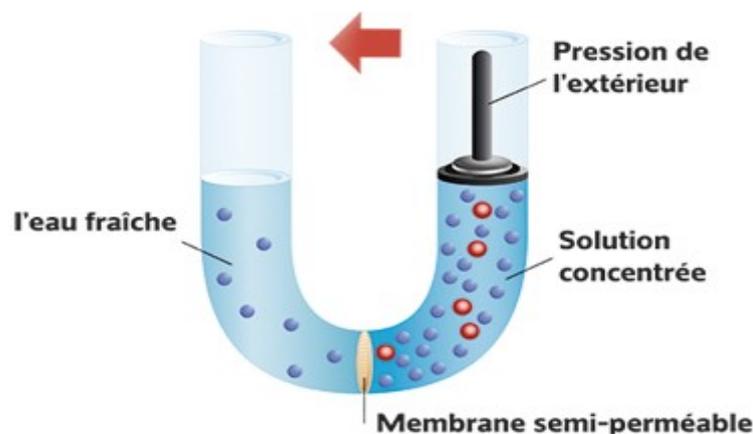


Figure 19: Principe de fonctionnement d'osmose inverse

VII.6. Applications

Analyse biomédicale

Les techniques d'extraction par membrane ont été appliquées à la détermination de divers composés, principalement les médicaments mais également d'autres composés, dans les fluides biologiques (plasma sanguin, urine etc.). Dans ces applications, la sélectivité est cruciale aussi bien que la possibilité d'automatisation.

Références

- Martin Levey, «Babylonian Chemistry: A Study of Arabic and Second Millennium B.C. Perfumery», Osiris, vol. 12, 1956, p. 376-389.
- D. F. Othmer (dir.), A Century of Chemical Engineering, 1982, « Distillation - Some Steps in its Development».
- Extrait de « Techniques expérimentales en chimie », Bernard A.S., Clède S., Emond M., Monin-Soyer H., Quérard J., Dunod, 2014.
- Drugeon S (2002); Mémoire de l'École Nationale de la Santé Publique ; Ingénieur du Génie Sanitaire ; 24 septembre 2002.
- Arakawa, T., Timasheff, S.N. Mechanism of Protein Salting In and Salting Out by Divalent Cation Salts: Balance between Hydration and Salt Binding. *Biochemistry*. **23**, 5912-5923 (1984).
- D. Skoog, D. West, J. Holler, « Chimie analytique », 7ème éd. 1997. De Boeck Université.
- B. Fosset, C. Lefrou, A. Masson, C. Mingotaud, «Chimie physique expérimentale», 2000, Hermann.
- RF Boyer (1986) Modern experimental biochemistry, Addison-Wesley Publishing Co, Reading (Mass., USA) p. 248-50.
- J.-P. Bayle, «400 manipulations commentées de chimie organique volume 1», 2006, Ellipses.
- J. Drouin, «Manipulations commentées de chimie organique», De Boeck Université, 1999, De Boeck.
- Leybros, J. and P. Frémeaux (1990). "Extraction solide-liquide aspects théoriques." techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 077 06
- Groubert, A. (1984). Techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie.
- Braithwaite and Smith 1985 - Chromatographic Methods - 4ème éd., Chapman and Hall.
- Savidan 1963 - La chromatographie - Dunod.
- Bounias 1983 - L'analyse biochimique quantitative par nanochromatographie en couche mince - Masson.
- Levine S.G. 1990 - Identification of Unknowns by Melting Point and Thin-Layer Chromatography in Combination - J. Chem. Ed., 67, p. 972.
- Article Gas chromatography de l'encyclopédie collaborative en ligne Wikipédia

- Principe d'analyse instrumentale, Skoog, Holler et Nieman (1ère édition française, traduite de la 5ème édition américaine)
- Modern Practice of Gas Chromatography, Grob, Robert L., Ed. John Wiley & Sons, 1977, p. 228
- Gilles Camus, L'électrophorèse, Planet-Vie, 20 janvier 2019, <https://planet-vie.ens.fr/article/1500/electrophorese>,
- Guastalla, Jean Salvinien, Jean Moretti, « ÉLECTROPHORÈSE », Encyclopædia Universalis, consulté le 20 février 2018.
- DESCLAUX Sandrine., 2003 - Techniques séparatives à membranes. Technique de l'ingénieur, 2003 volume J 3, n° J2731. P 8.
- CARDOT Claude. 2002 - Techniques membranaires: Les traitements de l'eau: procédés physico-chimiques et biologiques. Cours et problèmes résolus. Paris, Ellipse Edition. Chapitre V, p. 71 à 87.