

République algérienne démocratique et populaire
Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Saïda Dr Moulay Tahar
Faculté des Sciences
Département de Chimie



SUPPORT DE COURS
TECHNIQUES D'ANALYSE
PHYSICOCHIMIQUES
"TECHNIQUES DE SÉPARATION"

Filières : Chimie

Niveau: 2^{ème} deuxième année licence "Sciences de la matière" du système LMD

Dr. Nadia BOUTALEB

Année Universitaire
2021-2022

AVANT-PROPOS

Ce polycopié de cours, conforme au programme enseigné, s'adresse aux étudiants de 2^{ème} deuxième année licence chimie "Sciences de la matière" du système LMD

Le contenu de ce polycopié résume tout ce qu'un étudiant doit connaître sur les techniques de séparation des mélanges homogènes/hétérogène.

Ce polycopié s'articule autour de sept chapitres:

Le premier chapitre porte des généralités sur les techniques de séparation, la différence entre un mélange homogène et un mélange hétérogène et les techniques de séparation dédiées pour chaque type.

Le deuxième chapitre détaille la méthode de séparation par rupture de phase: centrifugation, précipitation, distillation, relargage.....etc.

Le troisième chapitre rassemble les techniques d'osmose, osmose inverse et dialyse.

Le quatrième chapitre présente la technique d'électrophorèse qui est une méthode 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.

Le cinquième chapitre est réservé aux méthodes d'extraction par solvants non miscibles.

Le sixième chapitre est consacré aux séparations par changement d'état (distillation).

Le dernier chapitre porte les différentes méthodes chromatographique, CCM, GPC, HPLC....

1. GENERALITES SUR LES TECHNIQUES D'EXTRACTION

1.1. Introduction.....	7
1.2. Principe des méthodes de séparation.....	8
1.3. Classification.....	8
1.3.1. Séparation des constituants d'un mélange homogène.....	9
1.3.1.1 Distillation fractionnée.....	9
1.3.1.2. Distillation du mélange Azéotropique.....	10
1.3.1.3. Chromatographie.....	10
1.4. Séparation des constituants d'un mélange hétérogène.....	10
1.4.1. Mélange(solide/liquide).....	10
1.4.1.1. Sédimentation.....	11
1.4.1.2. Filtration.....	11
1.4.1.3. Centrifugation.....	12
1.4.2. Mélange de deux liquides non miscibles.....	13
1.4.2.1. Décantation.....	13
2. SEPARATION PAR RUPTURE DE PHASE.....	15
2.1. Augmentation de la concentration.....	15
2.2. Techniques d'élimination du solvant.....	15
2.2.1 Concentration à pression ambiante.....	15
2.2.2 Concentration sous pression réduite.....	15
2.3. Diminution du pouvoir solvant.....	16
2.3.1. Variation de la température.....	17

TABLE DES MATIERES

2.3.2. Addition d'un non solvant.....	17
2.3.3. Relargage (démixtion)	17
3. OSMOSE ET DIALYSE	20
3.1. Osmose.....	20
3.2. Expérience de Pfeiffer.....	21
3.3. Loi de van 't Hoff.....	22
3.3.1. En fonction de la concentration.....	23
3.4. Pression osmotique de la solution en atmosphère.....	25
3.5. Détermination de la masse molaire du soluté par osmométrie.....	26
3.6. Osmose inverse.....	27
3.7. Dialyse.....	28
3.8. Différence entre la membrane d'osmose et la membrane de dialyse.....	29
4. L'ELECTROPHORESE	31
4.1. Principe.....	31
4.2. Types d'électrophorèse.....	31
4.2.1. Electrophorèse en des conditions dénaturantes.....	31
4.2.2. Electrophorèse en veine liquide (électrophorèse libre.....	32
4.2.3. Electrophorèse de zone sur support.....	32

5. EXTRACTION PAR UN SOLVANT NON MISCIBLE.....	34
5.1. Introduction.....	34
5.2. Coefficient de partage, taux de distribution et expression du rendement.....	35
5.2.1 Coefficient de partage ou de distribution.....	35
5.2.2. Taux de distribution.....	35
5.2.3. Rendement d'extraction.....	36
5.3. Etude quantitative.....	37
5.3.1. Notions de quantités minimale et maximale de solvant.....	37
5.3.1.1. Quantité minimale de solvant.....	38
5.3.1.2. Quantité maximale de solvant.....	40
5.4. Positionnement du point M.....	41
5.5. Caractéristiques de l'extrait et du raffinat.....	43
6.SEPARATION PAR CHANGEMENT D'ETAT(DISTILLATION).	46
6.1. Introduction.....	46
6.2. Définitions.....	46
6.3. Mélanges non idéaux.....	49
6.3.1. Mélanges azéotropiques.....	49
6.3.2. Mélanges homoazéotropes.....	50
6.3.3. Mélanges hétéroazéotropiques.....	51
6.4. Distillation simple.....	52
6.5. Distillation fractionnée.....	53
6.6 Rectification continue.....	55
7. METHODES CHROMATOGRAPHYQUES	
7.1. Historique de la chromatographie.....	57
7.2. Principe.....	57
7.3. Types de chromatographie.....	58
7.4. Méthodes chromatographiques.....	63
7.4.1. Chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	63
7.4.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	67
7.4.3. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC).....	69

LISTE DE FIGURES

Figure 1.1 Classification des méthodes de séparation des différents mélanges.....	9
Figure 1.2 Montage de la distillation fractionnée.....	9
Figure 1.3 Principe de la sédimentation d'un mélange hétérogène solide liquide.....	11
Figure 1.4 Principe d'une filtration simple.....	12
Figure 1.5 Principe d'une filtration sous vide.....	12
Figure 1.6 Principe de la centrifugation.....	12
Figure 1.7 Principe de la décantation de deux liquides non miscibles....	13
Figure 2.1 : Schéma d'un évaporateur rotatif.....	16
Figure 2.2 Principe du relargage.....	18
Figure 3.1 Montage expérimental schématique de Dutrochet et résultat de l'expérience.....	20
Figure 3.2 Schéma de l'illustration expérimentale de l'osmose.....	21
Figure 3.3 schéma de l'osmomètre de Pfeiffer.....	22
Figure 3.4 Schéma illustratif des relations osmotiques entre une cellule et le milieu extérieur.....	24
Figure 3.5 Phénomènes d'osmose inverse.....	28
Figure 3.7 Principe du dialyse.....	28
Figure 3.6 Principe cellulaire d'une dialyse.....	29
Figure 5.1. Schéma de séparation extrait / raffinat.....	34
Figure 6.1. Schéma d'une simple distillation.....	53
Figure 6.2. Schéma d'une distillation fractionnée.....	54
Figure 7.1. Classification des méthodes chromatographiques.....	58
Figure 7.2. Schéma de la chromatographie d'élution sur colonne.....	59
Figure 7.3. Schéma d'un Chromatographe en phase gazeuse (CPG).....	69
Figure 7.4. Schéma d'un chromatogramme Liquide Haute Performance (HPLC).....	71

Chapitre **1**

**GENERALITES SUR LES TECHNIQUES
D'EXTRACTION**

1. GENERALITES SUR LES TECHNIQUES D'EXTRACTION

1.1. INTRODUCTION

Lors des synthèses chimiques ou lors d'une analyse de substances inconnues, des problèmes énormes de séparation des différents constituants du mélange sont confrontés par le chimiste. Le but de ce cours est de présenter les méthodes les plus couramment utilisées aux laboratoires ou dans l'industrie, ces techniques de séparation font le plus souvent appel aux propriétés physiques des constituants du mélange.

L'extraction est une technique de séparation en génie chimique, elle utilise un moyen d'extraction pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de ces propriétés chimiques et/ou physiques. Le moyen d'extraction doit être non ou peu miscible avec les composants principaux du mélange alors que le composé à extraire doit posséder plus d'affinité avec le moyen d'extraction qu'avec les composants principaux du mélange. Ces techniques de séparation peuvent être effectuées pour des mélanges homogènes ou hétérogènes.

Qu'est ce que c'est un mélange homogène et hétérogène ?

Un mélange: est une association de deux ou plusieurs substances solides, liquides ou gazeuses qui n'interagissent pas chimiquement.

Un mélange homogène: est formé de plusieurs corps que l'on ne peut pas distinguer à l'œil nu (eau+vinaigre, eau+sirop).

On peut citer l'exemple (sel+eau), le sel va se dissoudre dans l'eau et on obtient donc une solution d'eau salée, le corps dissout est appelé (soluté) et le liquide dans lequel il a été dissout "l'eau" est appelé (solvant).

Un mélange hétérogène: est formé de plusieurs corps visibles dont on peut les distinguer à l'œil nu. Il peut s'obtenir à partir de deux liquides non miscibles (eau et huile), d'un liquide et un solide insoluble (eau, sable), Un gaz et un liquide peut également constituer un mélange hétérogène (boissons gazeuses).

1.2. Principe des méthodes de séparation

Le principe d'une technique de séparation est d'utiliser une différence de propriétés entre le composé d'intérêt et le reste du mélange. Plus la différence de propriété sera grande, plus la séparation sera aisée. Les buts de ce type de techniques peuvent être divers :

➤ **Purification:** des impuretés doivent être extraites du composé d'intérêts (recristallisation).

➤ **Concentration:** élimination d'une partie du solvant. Voir aussi dessiccation.

➤ **Fractionnement:** séparation d'un mélange complexe en plusieurs mélanges différents (distillation).

1.3. Classification

Les composants d'un mélange retiennent leurs propriétés physicochimiques propres. Pour séparer ces composants, on met à profit certaines différences de propriétés entre le composé d'intérêt et le reste du mélange (états physiques, densité, températures de changement d'état). Plus cette différence sera grande, plus la séparation sera aisée. Ainsi, Le choix de la technique appropriée varie en fonction du mélange (type et état physique) de la substance que l'on doit séparer et des phases qui constituent le mélange. Ce qui nécessite une bonne connaissance de la composition du mélange et des propriétés individuelles des différents composants. plusieurs cas sont envisageables.

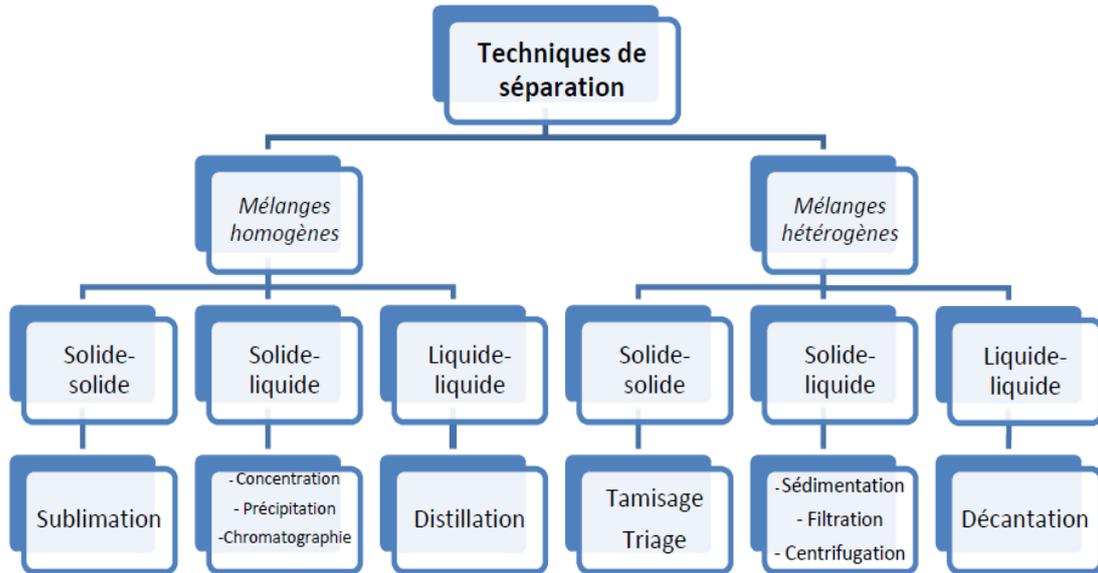


Figure 1.1 Classification des méthodes de séparation des différents mélanges.

On distingue deux catégories de méthodes de séparations:

1.3.1. Séparation des constituants d'un mélange homogène

On peut envisager le cas de plusieurs liquides parfaitement miscibles, ou de plusieurs composés solubles dans le même solvant, de let mélanges peuvent être séparés par:

1.3.3.1. Distillation fractionnée

basée sur la différence du point d'ébullition des différents constituants.

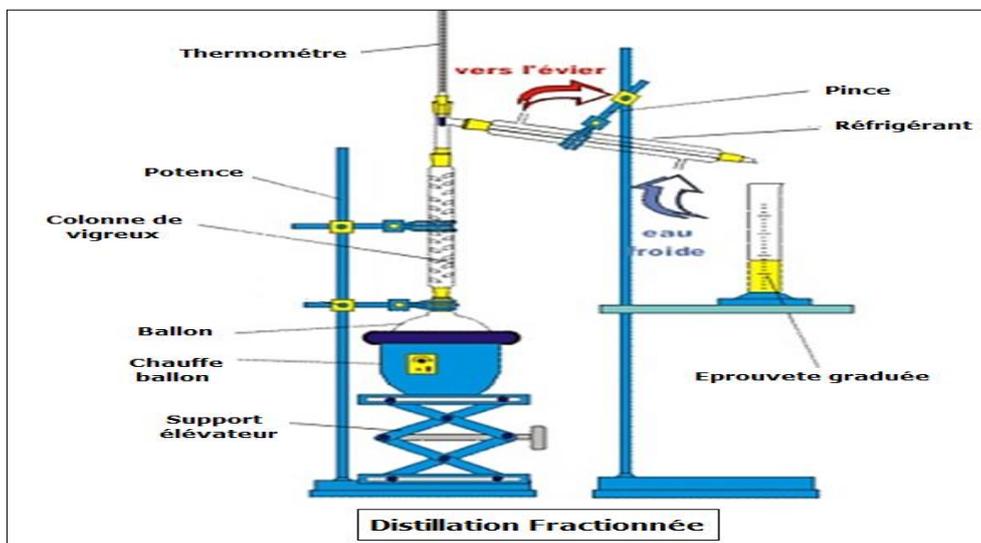


Figure 1.2 Montage de la distillation fractionnée

1.3.2. Distillation du mélange Azéotropique

A titre d'exemple, signalons que l'éthanol et l'eau forment un azéotrope à 96 % d'éthanol. Pour obtenir de l'alcool absolu, il est nécessaire de distiller l'éthanol en présence de benzène, l'eau résiduelle étant alors éliminée par formation d'un azéotrope ternaire eau, alcool, benzène, ayant un point d'ébullition inférieur à celui de l'éthanol pur.

"Un mélange azéotrope ou azéotropique est un mélange liquide qui bout à température fixe en gardant une composition fixe. La distillation azéotropique la plus courante est celle de la solution **eau/éthanol**. Avec les méthodes de distillation habituelles, l'éthanol ne peut être purifié qu'à 96 % environ (d'où la concentration de 96 % de l'alcool disponible dans le commerce) du fait de la présence d'un azéotrope du mélange eau/éthanol à cette concentration (sous la pression atmosphérique). Une fois arrivé à la proportion de 96 % d'éthanol/4 % d'eau, la distillation n'a plus aucun effet. Certaines utilisations demandent un degré de pureté de l'alcool plus important, comme l'usage comme additif dans le gazole. L'azéotrope doit donc être « brisé » pour obtenir un meilleur raffinement. Une des méthodes est l'ajout d'un agent de séparation. L'ajout de benzène à la solution change les interactions moléculaires et élimine "brise" l'azéotrope. L'inconvénient est qu'une autre séparation sera nécessaire pour éliminer le benzène.

1.3.3. Chromatographie

Est une méthode de séparation utilisant des phénomènes physiques, soit d'adsorption ou de solubilité. D'une manière générale dans toute chromatographie la corps à séparer est dissous dans une phase fluide (liquide ou gaz) mobile, qui se déplace sur une phase stationnaire pouvant être liquide ou solide.

1.4. Séparation des constituants d'un mélange hétérogène

1.4.1. Mélange (solide/liquide)

1.4.1.1. Sédimentation

Si un liquide contenant des particules en suspension est laissé au repos, les particules tombent vers le fond ou remontent à la surface selon leurs densités et leurs diamètres, sous l'action combinée de leur poids et de la poussée d'Archimède. Le liquide est appelé couramment « **surageant** », alors les particules solides qui se sont déposées au fond du récipient constituent le « **dépôt** ». Cette technique de séparation est surtout utilisée en bassin de décantation pour le traitement des eaux usées : dessablage, récupération des boues...

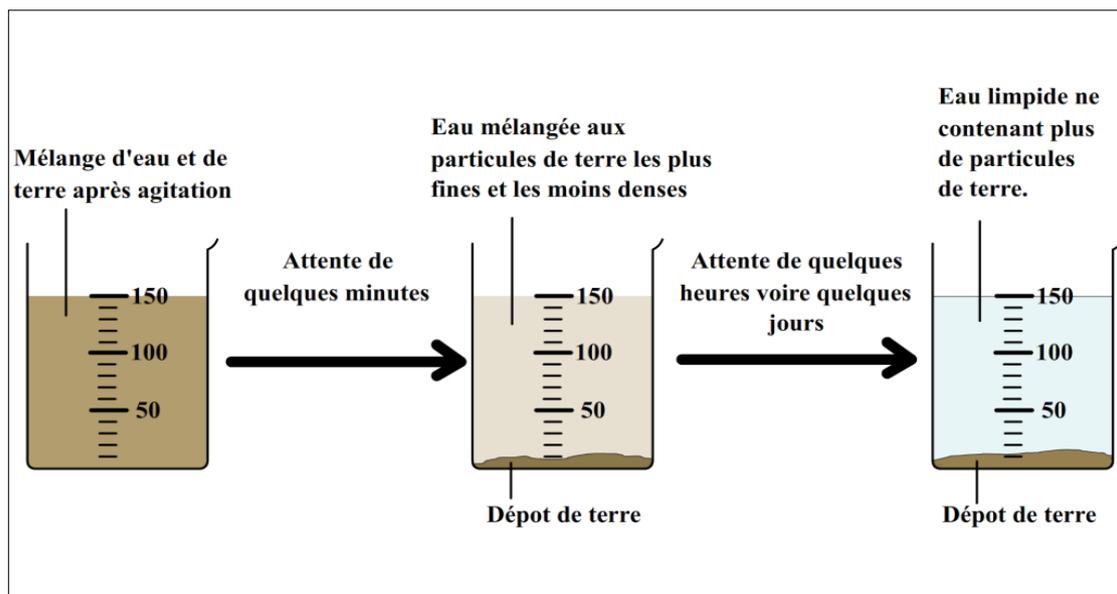


Figure 1.3 Principe de la sédimentation d'un mélange hétérogène solide liquide

1.4.1.2. Filtration

La filtration est un procédé de séparation dans lequel on fait percoler un mélange solide-liquide à travers un milieu poreux (filtre) qui retient idéalement les particules solides et laisse passer le liquide (filtrat), Ce dernier doit être chimiquement inerte et il permet de retenir les particules solides en suspension dans le mélange qui sont plus grosses que ses pores Le solide que l'on recueille dans le filtre est appelé "**résidu**"

Elle peut s'effectuer sous, pression atmosphérique (par gravité), pression réduite (par aspiration), à chaud ou à froid. La filtration à pression atmosphérique est lente contrairement à la filtration sous vide qui utilise un montage pour réduire la pression et accélérer l'opération.

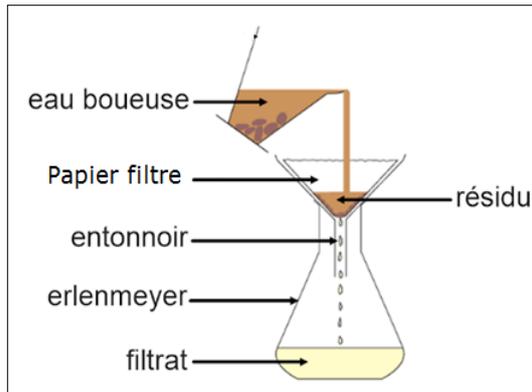


Figure 1.4 Principe d'une filtration simple

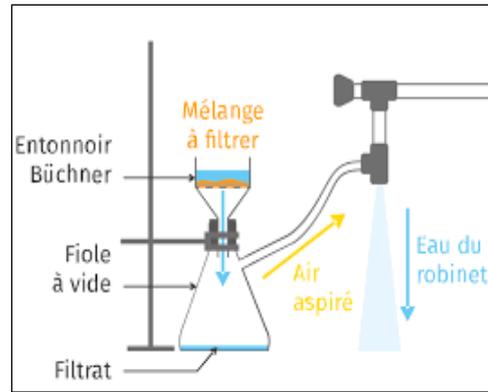


Figure 1.5 Principe d'une filtration sous vide

1.4.1.3. Centrifugation

Lorsque la sédimentation des particules sous l'effet du poids est inefficace (particules légères) ou trop lente, on a alors recours au procédé de centrifugation qui permet de séparer de deux à trois phases par l'action de la force centrifuge. Le mélange est entraîné dans un mouvement de rotation très rapide. Les particules solides les plus lourdes sont alors poussées vers les parois du récipient (culot), alors que les particules les plus légères et les liquides restent en surface, ce que l'on nomme surnageant. Elle permet d'obtenir les mêmes résultats qu'une sédimentation, mais plus rapidement.

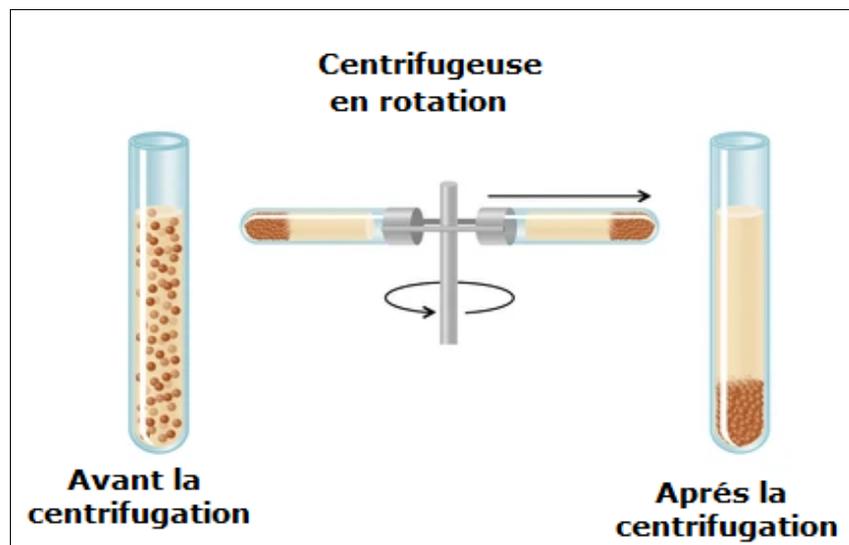


Figure 1.6 Principe de la centrifugation

1.4.2. Mélange de deux liquides non miscibles

1.4.2.1. Décantation

C'est un procédé de séparation mécanique qui permet de séparer les constituants d'un mélange hétérogène composé de deux liquides non miscibles sous l'effet de leurs densités. La séparation se réalise en laissant seulement se reposer le mélange. Les corps les plus lourds vont alors se déposer dans le fond du récipient. Lorsque les deux phases sont bien distinctes, on peut les séparer facilement. Cette méthode simple n'est pas coûteuse car elle nécessite peu de matériel mais son temps de réalisation est long.

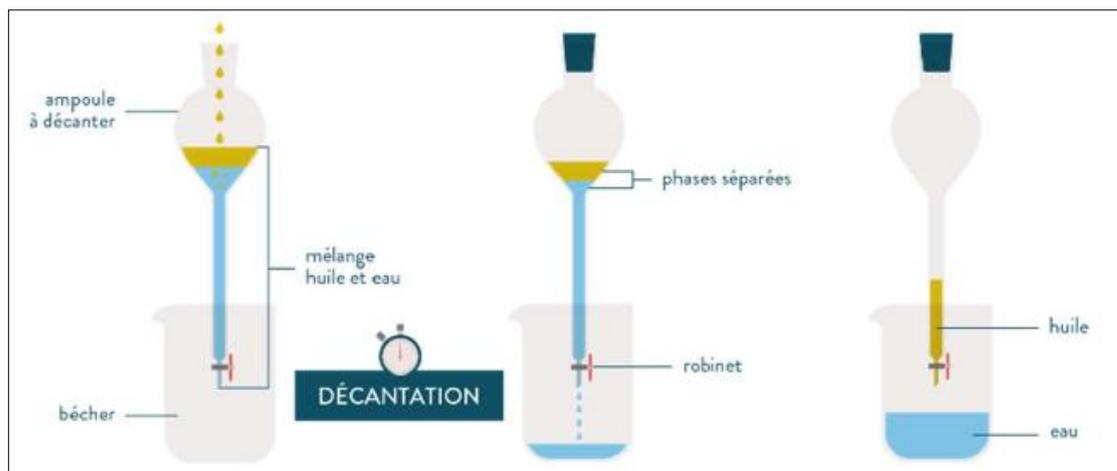


Figure 1.7 Principe de la décantation de deux liquides non miscibles

Chapitre **2**

SEPARATION PAR RUPTURE DE
PHASE

2. SEPARATION PAR RUPTURE DE PHASE

Les constituants d'un mélange homogène peuvent être séparés par plusieurs techniques. Le principe de la rupture de phase c'est de provoquer une hétérogénéité dans la phase homogène:

➤ soit par augmentation de la concentration de l'analyte (évaporation partielle ou totale du solvant).

➤ soit par diminution de sa solubilité (précipitation) "diminution du pouvoir solvant".

2.1. Augmentation de la concentration

C'est un processus par lequel on élimine la partie liquide d'un mélange homogène en le transformant en vapeur. Pour ce faire, on peut laisser le constituant liquide du mélange s'évaporer naturellement à température ambiante, ou on peut accélérer le processus en chauffant le mélange. L'évaporation totale sert à récupérer la partie solide d'un mélange hétérogène ou encore le soluté d'une solution. L'évaporation partielle permet de concentrer le soluté d'une solution dans un plus petit volume de solvant.

2.2. Techniques d'élimination du solvant

2.2.1 Concentration à pression ambiante

Par un procédé simple qui nécessite une élévation importante de la température de la solution avec le risque d'altération des produits thermolabiles et risques de l'oxydation à l'air de substances fragiles.

2.2.2 Concentration sous pression réduite

On limite l'élévation de température (**conditions douces**) dont on utilise un évaporateur rotatif avec un ballon contenant la solution à concentrer, le ballon est animé d'un mouvement de rotation pour accélérer l'opération en augmentant la surface d'évaporation. «pas de risque d'altération». Cet appareil permet de concentrer partiellement ou à sec une solution ou une suspension, son principe est celui de la distillation

sous vide. La température de chauffage correspond à la température d'évaporation du solvant à éliminer.

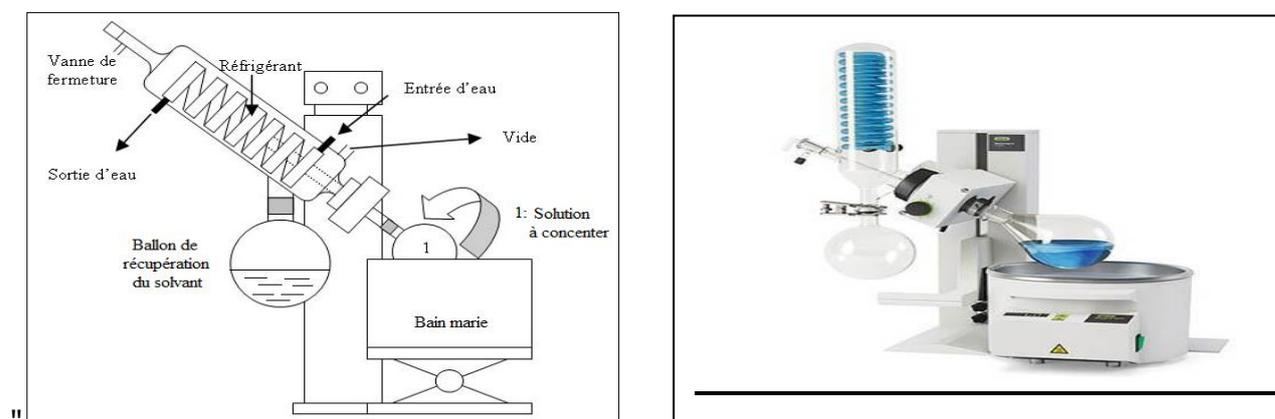


Figure 2.1 : Schéma d'un évaporateur rotatif

NB: si le solvant est très volatil, la tension de vapeur est suffisante pour qu'il ait évaporation totale sans faire recours au chauffage. L'élimination des traces de solvants résiduelles peut être effectuée par un dessiccateur contenant des agents desséchants telque: Na_2SO_4 , MgSO_4 , gel se silice.

2.3. Diminution du pouvoir solvant

Le pouvoir de solvant (solvant hydrocarboné¹⁾ peut être déterminé par la mesure de **l'indice kauri-butanol (IKB)**. C'est un indice sans dimension. Plus la solubilité est élevée, plus l'indice kauri-butanol est élevé. Les solvants faibles sont entre environ 10 et 20, les solvants forts tels que les solvants chlorés peuvent atteindre des valeurs dans la gamme des centaines. Cet indice peut être déterminé par le point de trouble du titrage par le solvant étudié d'une solution standard de résine de Kauri dissoute dans du butanol.

Tableau2.1 Valeurs des l'indice de Kauri-butanol de quelques solvants

Solvant	Indice de Kauri-butanol
Décafluoropentane	9
Dichloro pentafluoropropane	31
1,1-Dichloro-1-fluoroéthane	56
Propane-2-Ol	80
Trichloréthylène	129
N-Méthyl-2-pyrrolidone	> 300

On peut diminuer la solubilité du soluté par des moyens physiques ou chimiques. Son but est de transformer un mélange homogène en un mélange hétérogène facile à séparer par les moyens discutés précédemment. La précipitation chimique consiste à former une phase hétérogène au sein d'une phase homogène par l'ajout d'un autre soluté qui pourra réagir avec l'analyte pour former une substance solide. Les moyens physiques consistent en ; la modification de la température, l'addition d'un non solvant ou le relargage.

2.3.1. Variation de la température

Par dissolution à chaud suivie d'un brusque refroidissement, ce qui entrain l'apparition de cristaux (recristallisation).

2.3.2. Addition d'un non solvant

L'ajout d'un second solvant miscible avec le premier solvant mais qui n'a pratiquement aucun pouvoir de dissolution vis-à-vis de la substance visée de la solution, entrain sa précipitation.

Exemple : précipitation de l'acide salicylique à partir d'une solution alcoolique, par addition d'eau.

2.3.3. Relargage (démixtion)

C'est une technique qui consiste à séparer une substance en solution de son solvant en introduisant une autre substance plus soluble qui prend sa place. Lorsqu'une substance est en solution, chaque molécule

est entourée par des molécules de solvant qui l'empêchent de se grouper. Si on introduit dans la solution une substance plus facilement soluble que la première, celle-ci monopolise les molécules du solvant permettant à la première de se séparer du solvant (phénomène de compétition). Le relargage peut être suivi d'une décantation, une filtration ou d'une distillation.

Exemple 1: Si on introduit très rapidement du sucre dans une bouteille de Coca-Cola ouverte : un jet de mousse apparaît. Il s'agit d'un phénomène de relargage entre le CO_2 et le sucre, ce dernier prenant la place du premier.

Exemple 2: Ajouter du sel "**NaCl**" dans l'eau savonneuse obtenue lors d'une réaction de synthèse du savon, pour faire précipiter le savon (qui est très peu voire pas du tout soluble dans l'eau salée).

Cette technique est utilisée également pour séparer l'ADN ou les protéines (en ajoutant du sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$).

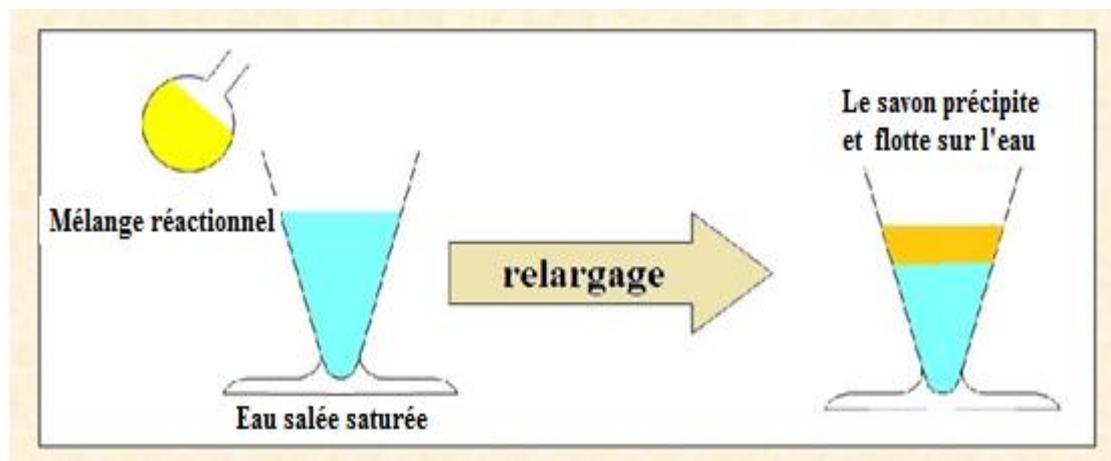


Figure 2.2 Principe du relargage

Chapitre **3**

OSMOSE ET DIALYSE

3. OSMOSE ET DIALYSE

3.1. Osmose

L'osmose est le passage de molécules de solvant, en général de l'eau, à travers une membrane semi-perméable (qui ne laisse passer que les molécules d'eau), depuis le milieu le moins concentré (**hypotonique**) en solutés vers celui le plus concentré (**hypertonique**).

L'osmose fut découverte par Dutrochet (1826) qui imagina un appareil (osmomètre) constitué d'un réservoir de verre rempli d'une solution sucrée colorée (sorte de cylindre vertical dont la base est obturée par une membrane et dont la partie supérieure est reliée à un long tube vertical de petit calibre "**colonne**") et plongé dans un cristalliseur contenant de l'eau.

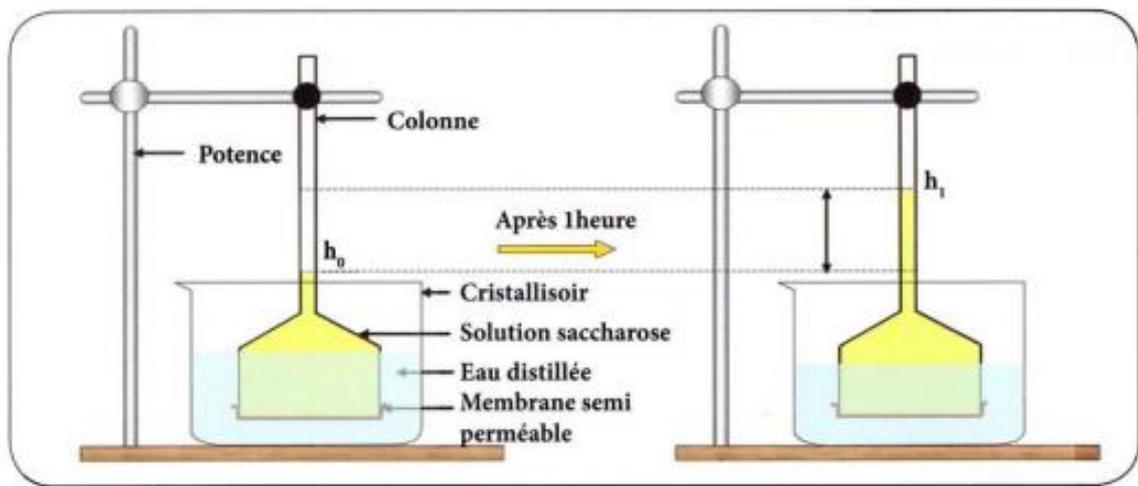


Figure 3.1 Montage expérimental schématique de Dutrochet et résultat de l'expérience

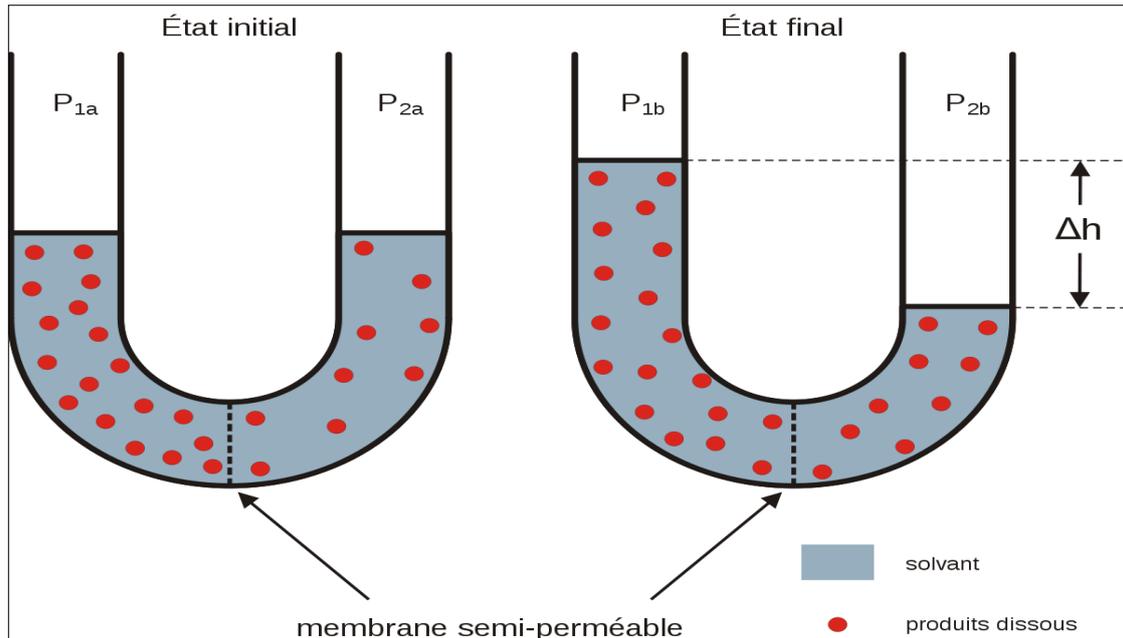


Figure 3.2 Schéma de l'illustration expérimentale de l'osmose.

Ce phénomène s'arrête lorsque les deux liquides séparés par la membrane ont atteint la même concentration. On parle alors de milieux **isotoniques**. La pression **hydrostatique** due à la différence de hauteur d'eau entre ces deux milieux compense alors la pression osmotique.

3.2. Expérience de Pfeiffer

On adapte un tube en verre à un flacon en porcelaine poreuse dont les pores sont bouchés par un précipité de ferrocyanure de cuivre. Un tel dispositif est appelé **osmomètre de Pfeiffer**.

L'osmomètre est rempli d'eau sucrée et plongé dans un cristalliseur rempli d'eau distillée.

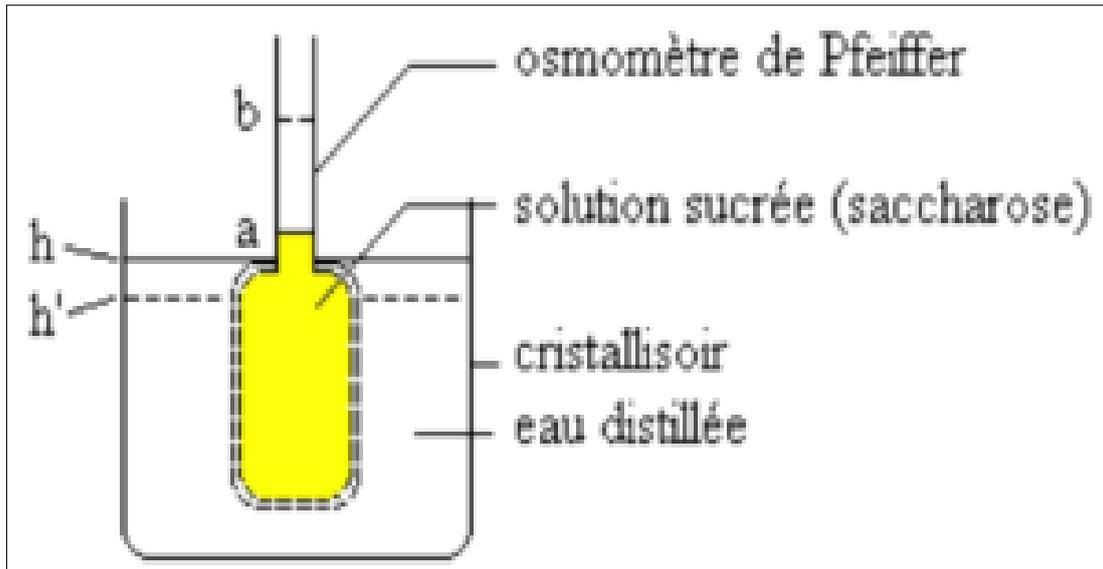


Figure 3.3 schéma de l'osmomètre de Pfeiffer.

Résultat : le niveau de la solution sucrée monte de **a** à **b** et se stabilise. Le niveau de l'eau pure dans le cristalliseur baisse de **h** à **h'** et y reste.

Interprétation et conclusion: Les molécules de sucre semblent attirer les molécules d'eau contenues dans le cristalliseur. Elles exercent donc une force qui lui permet de traverser la paroi en porcelaine poreuse. Une telle force est appelée **force osmotique** ou **pression osmotique**. Elle est proportionnelle à dénivellation (**différence de niveau**) observée dans le tube. La pression osmotique est en fonction de la concentration en masse du corps dissout, de son ionisation, de sa masse molaire et de la température.

3.3. Loi de van 't Hoff, ou loi de l'osmométrie

$$\pi V = nRT$$

avec :

- **π** : La pression osmotique (en Pascal), c'est-à-dire le surcroît de pression exercée sur la membrane par la solution du compartiment **B** par rapport au solvant pur du compartiment **A**.

- **V**: Le volume de la solution du compartiment B (en m³).
- **n**: La quantité (ou nombre de moles) de soluté en solution (en mole).
- **R**: La constante universelle des gaz parfaits (en J/(K·mol)).
- **T**: la température (en K).

La forme de cette loi rappelle celle des gaz parfaits $PV=nRT$. Elle est totalement indépendante des propriétés intrinsèques du solvant et du soluté. Quelles que soient les conditions opératoires $\pi > 0$, c'est donc toujours le compartiment contenant la solution la plus concentrée qui exerce la pression la plus importante sur la membrane.

3.3.1. En fonction de la concentration

En notant **C** la **concentration molaire** du soluté dans le compartiment **B**, avec la relation : $C=n/V$.

on peut également écrire :

Loi de l'osmométrie : $\pi = CRT$

Si les deux compartiments contiennent tous les deux une solution, de solutés qui peuvent être différents mais dans le même solvant, alors la pression osmotique totale exercée sur la membrane est égale à l'écart entre les pressions osmotiques exercées par les deux solutions. On note :

- **C_A**: la concentration de soluté dans le compartiment **A** (en mole/l) ;
- **C_B**: la concentration de soluté dans le compartiment **B** (en mole/l) ;
- **π_A** : la pression osmotique exercée par le compartiment **A** contenant la solution de concentration **C_A** lorsque le compartiment **B** contient le solvant pur.
- **π_B** : la pression osmotique exercée par le compartiment **B** contenant la solution de concentration **C_B** lorsque le compartiment **A** contient le solvant pur.

avec :

$$\pi_A = C_A RT \quad \text{et} \quad \pi_B = C_B RT$$

La pression osmotique totale exercée sur la membrane lorsque les deux compartiments contiennent une solution vaut, en prenant le compartiment **B** comme milieu de référence (par exemple le cytoplasme d'une cellule en biologie).

$$\pi = \pi_B - \pi_A = (C_B - C_A) RT$$

R: Constante universelle des gaz parfaits.

R: 8,31 J/osmol.K° (SI) = 0,0082 l.atm/osmol.K°

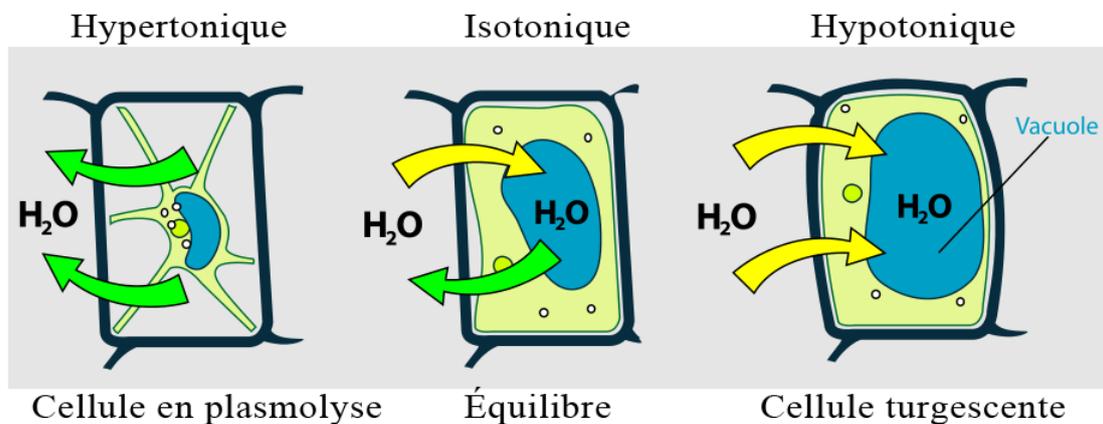


Figure 3.4 Schéma illustratif des relations osmotiques entre une cellule et le milieu extérieur.

Trois cas se présentent :

- Si la concentration du compartiment **B** est inférieure à celle du compartiment **A** on a $\pi < 0$, c'est donc le milieu **A** qui exerce la plus

grande pression sur la membrane et l'osmose s'effectue de **B** vers **A** ; le milieu A est dit **hypertonique** par rapport au milieu **B**.

➤ Si les concentrations de part et d'autre de la membrane sont égales, la pression osmotique est nulle et il n'y a pas d'osmose ; le milieu **A** est dit **isotonique** par rapport au milieu **B**.

➤ Si la concentration du compartiment **B** est supérieure à celle du compartiment **A**, on a $\pi > 0$, c'est donc le milieu **B** qui exerce la plus

grande pression sur la membrane et l'osmose s'effectue de **A** vers **B** ; le milieu **A** est dit **hypotonique** par rapport au milieu **B**.

➤ **Cas d'un soluté dissociatif:**

Si le soluté se dissocie dans la solution liquide, comme par exemple un sel (**NaCl**) se dissociant en ions Na^+ , Cl^- , l'expression de la loi est modifiée par le **facteur de van 't Hoff "i"** :

et la Loi de van't Hoff, ou loi de l'osmométrie devient:

$$\pi V = inRT$$

n: la quantité de soluté.

i :le nombre d'espèces ioniques présentes dans le solvant (après dissociation du soluté dans le solvant).

3.4. Pression osmotique de la solution en atmosphère

$$\pi = RT \beta C_M$$

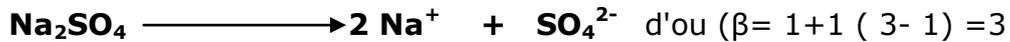
$$C_{osm} = \beta C_M$$

$$\pi = RT C_{osm}$$

$$\beta = 1 + \alpha (v - 1)$$

(β : est le nombre de particules, α : le taux de dissociation et ν : le nombre d'ions).

Exemple:



3.5. Détermination de la masse molaire du soluté par osmométrie

On considère deux compartiments séparés par une membrane semi-perméable. Chaque compartiment est équipé d'un tube montant verticalement, les deux tubes sont en équilibre gazeux permanent. L'un des compartiments (compartiment A) est rempli de solvant pur de masse volumique ρ , l'autre (compartiment B) d'une solution dans le même solvant d'un soluté à la concentration massique C_m (masse e soluté m dans un volume V de solution). Le remplissage des deux compartiments s'effectue de façon que les liquides se situent initialement à la même hauteur dans les tubes. Le solvant migre par osmose à travers la membrane du compartiment **A** vers le compartiment **B**. Lorsque l'équilibre osmotique est établi, la hauteur du liquide dans le tube **B** est plus grande que la hauteur du liquide dans le tube **A**. On mesure l'écart Δh entre les deux hauteurs.

La pression osmotique vaut:

$$\pi = \rho g \Delta h$$

ρ : la masse volumique du solvant.

g : l'accélération de la pesanteur.

Masse molaire du soluté :

$$\pi V = nRT$$

$$\pi = nRT/V = mRT/VM$$

$$M = mRT / \pi V$$

$$M = C_m RT / \pi V$$

$$M = C_m RT / \rho g \Delta h \quad (\text{Avec } C_m = m/V)$$

3.6. Osmose inverse

Si on applique une pression sur la solution concentrée, la quantité de solvant transférée par osmose va diminuer. Avec une pression suffisamment forte, le flux de solvant va même s'annuler : cette pression est nommée la pression osmotique π . Si on dépasse la valeur de la pression osmotique, on observe un flux d'eau dirigé en sens inverse du flux osmotique : c'est le phénomène d'osmose inverse. Comme son nom le suggère, les échanges de solvant se font par perméation sous l'effet d'un gradient de pression depuis le milieu hypertonique vers le milieu hypotonique, ce qui revient à concentrer davantage le milieu le plus concentré. Le liquide est refoulé au travers de la membrane, laissant les solides dissous derrière. L'osmose inverse utilise des membranes denses sans porosité qui laissent passer le solvant et arrêtent les ions.

L'osmose inverse est principalement utilisée dans le dessalement de l'eau de mer et des eaux saumâtres, la production de l'eau ultrapure (industries électronique, pharmaceutique ...) et dans l'extraction de protéines du lactosérum dans l'industrie laitière.

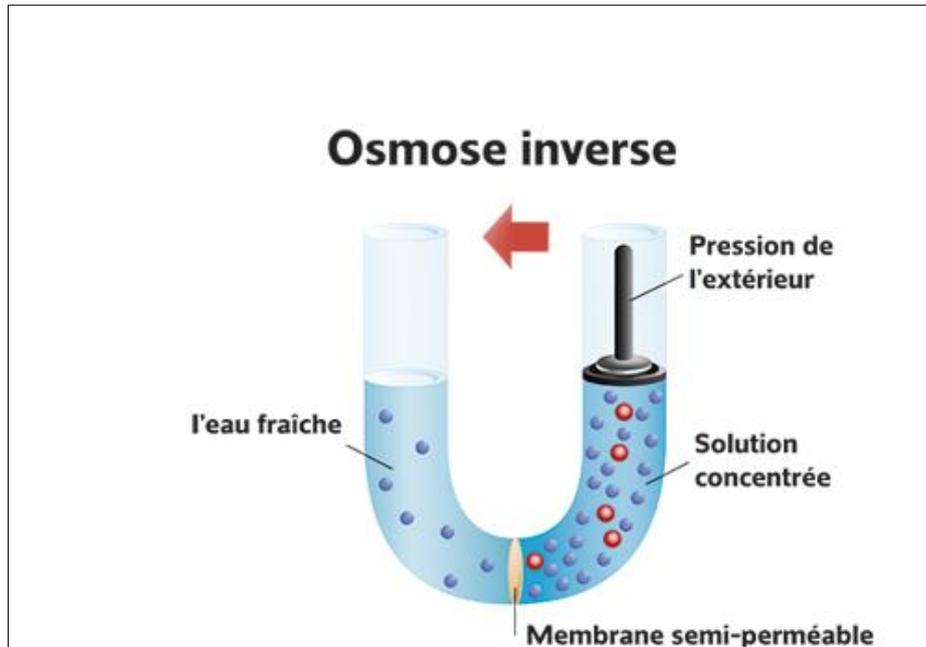


Figure 3.5 Phénomènes d'osmose inverse.

3.7. Dialyse

Si l'on oppose à travers une membrane **dialysante** (perméable aux petits ions mais pas aux macro-ions) une solution de macromolécules ionisées $M-Na^+$ à une solution aqueuse de Na^+, Cl^- par exemple, les concentrations des ions diffusibles de part et d'autre de la membrane ne peuvent s'égaliser à cause de la présence de macromolécules chargées qui ne diffusent pas. Il y a du côté des macromolécules un excès d'ions diffusibles, d'où une pression supérieure à la pression osmotique normale, cette nouvelle pression porte le nom de **pression oncotique**.

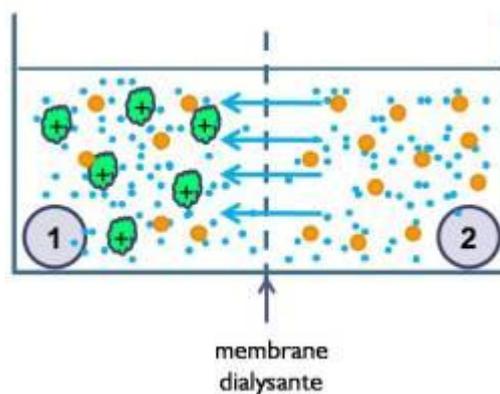


Figure 3.7 Principe du dialyse

Les deux compartiments renferment une solution saline contenant de l'eau et des ions capables de traverser librement la membrane (ions diffusibles). L'équilibre est perturbé par la présence d'une macromolécule **M** chargée non diffusible dans le **compartiment 1**.

C_1 et C_2 sont respectivement les concentrations molaires de deux solutions 1 et 2. Du fait de la répartition asymétrique des ions de part et d'autre de la membrane, il existe une différence de potentiel appelé **potentiel de Donnan** (potentiel qui permet d'annuler le flux diffusif des ions).

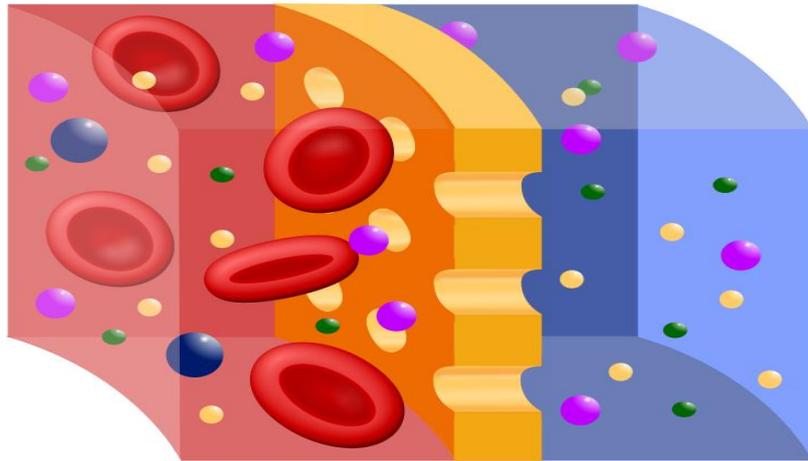


Figure 3.6 Principe cellulaire d'une dialyse

(rouge = sang, jaune = membrane semi-perméable, bleu = liquide de dialyse)

3.8. Différence entre la membrane d'osmose et la membrane de dialyse

- Membrane d'osmose :seule l'eau qui traverse à travers cette membrane.
- Membrane de dialyse :l'eau et les ions de tailles petites traversent à travers cette membrane
- Membrane d'osmose est notée membrane semi-perméable ou hémiperméable et Membrane de dialyse est notée membrane dialysante.
- Les pores de la membrane d'osmose sont dans l'ordre de Å et les pores de la membrane dialysante sont dans l'ordre de nm.
- La pression de l'osmose est notée pression osmotique et celle de la dialyse est notée pression oncotique.

Chapitre

4

L'ELECTROPHORESE

4. L'ELECTROPHORESE

L'électrophorèse est une méthode 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.

4.1. 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.

4.2. Types d'électrophorèse

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

4.2.1. 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 manopoliyanions, 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:

4.2.2. 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 coûteux, mise en oeuvre longue et délicate, séparation incomplète des particules).

4.2.3. 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).

Chapitre **5**

EXTRACTION PAR UN SOLVANT NON
MISCIBLE

5. EXTRACTION PAR UN SOLVANT NON MISCIBLE

5.1. Introduction

Considérons une solution **F** contenant du soluté **B** et du diluant **A**, dont la composition et la masse sont connues. On veut extraire une partie du soluté de la solution. On choisit pour cela un solvant pur approprié **S**. Dans le cadre d'une extraction à contact simple, la solution **F** est mise en contact avec le solvant. Sous l'effet d'une agitation, le solvant est dispersé sous forme de gouttelettes dans la phase riche en diluant.

A l'interface se crée un transfert de soluté de la phase diluant vers la phase solvant, jusqu'à un équilibre thermodynamique entre les phases. Si l'agitation est arrêtée, il se produit une décantation avec séparation des phases. Si le solvant est moins dense (ce qui est souvent le cas), l'extrait se situe dans la partie supérieure, alors que le raffinat se concentre dans la partie inférieure.

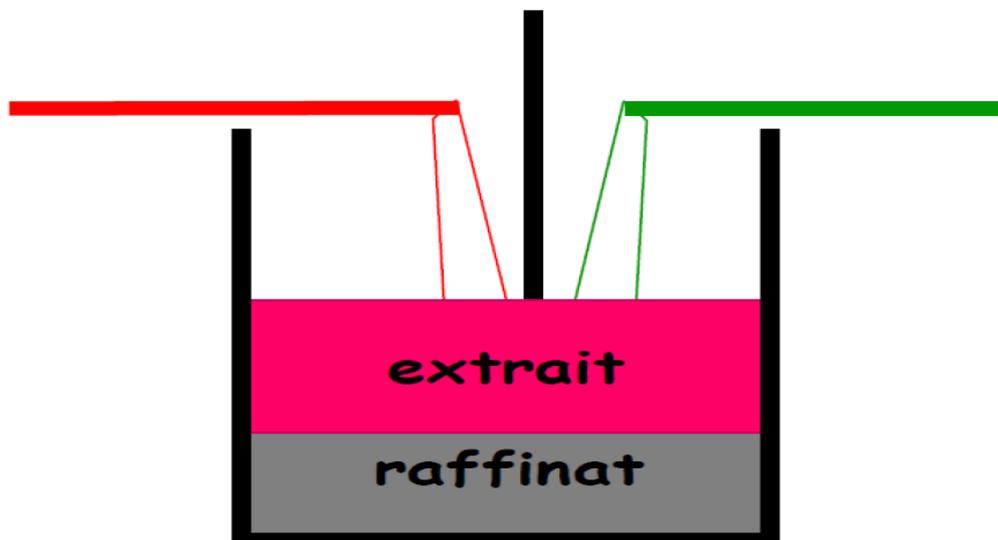


Figure 5.1. Schéma de séparation extrait / raffinat

5.2. Coefficient de partage, taux de distribution et expression du rendement

5.2.1 Coefficient de partage ou de distribution

La plupart des extractions consistent à extraire un soluté d'un solvant aqueux/hydrophile (noté **A** par convention) par un solvant organique/hydrophobe (noté **S**). Le coefficient de partage « **K** » est le rapport des concentrations de la substance **B** dans les deux phases, à l'équilibre.

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

A une température donnée, dans le cas où il n'y a aucune interaction solvant/soluté et où les solvants sont parfaitement non miscibles, le coefficient de partage **K** dépend alors des coefficients de solubilité de **S'** dans les deux solvants, notés **S'A** et **S'B**. On a alors :

$$K = \frac{S'_S}{S'_A}$$

5.2.2. Taux de distribution

Dans le cas où les solvants ne sont pas parfaitement non miscibles, le coefficient de partage ne peut pas être directement utilisé. Le taux de distribution (ou de répartition) « **D** » est le rapport entre les concentrations totales de la substance **B** dans **A** et **S** quel que soit l'état dans lequel elle se trouve. On parle de distribution non régulière du soluté.

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

Avec :

$$\Sigma CA = [\text{forme initiale}]A + [\text{forme modifiée}]A$$

$$\Sigma CS = [\text{forme initiale}]S + [\text{forme modifiée}]S$$

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

$$D = K$$

Le taux de distribution est utilisé notamment lorsque le soluté peut exister sous plusieurs formes chimiques suite à des phénomènes d'association ou de dissociation : par exemple la substance se trouvera alors sous forme acide dans un des solvants et sous forme acide et sous forme basique dans l'autre.

On aura alors :

$$D = \frac{[R - COOH]_S}{[R - COOH]_A - [R - COO^-]_A}$$

5.2.3. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction « **R** » est le rapport entre la quantité maximale de substance extraite par le solvant **S** (Q_S) et la quantité initiale en solution dans le solvant ou diluant **A** (Q_{A0}).

$$K = \frac{Q_S}{Q_{A0}}$$

Avec :

$$Q_{A0} = Q_A + Q_S$$

Q_A : quantité restante dans le solvant (diluant) **A** à la fin de l'extraction.

5.3. Etude quantitative

Il s'agit de :

➤ déterminer la composition et la masse de l'extrait et du raffinat pour une masse de solvant ajoutée.

Ou de:

➤ définir la masse de solvant nécessaire si on impose les compositions d'extrait et de raffinat.

5. 3.1. Notions de quantités minimale et maximale de solvant

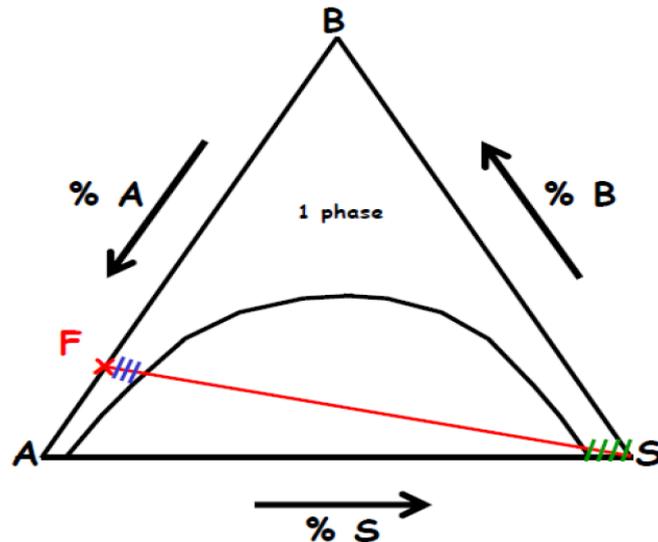
Connaissant la composition de l'alimentation **F** (pourcentages de **A** et de **B**), on peut placer sur le diagramme triangulaire le point correspondant à cette phase (sur le côté **AB** du triangle).

➤ Si on ajoute du solvant pur **S**, on se déplace sur la droite **FS**.

➤ Si la quantité de solvant est faible, le point représentatif du mélange peut être placé dans la zone hachurée en bleu.

Toutefois, on se situe alors dans la zone du diagramme correspondant à un mélange ternaire constituant une seule phase. L'extraction n'est donc pas possible car la quantité de solvant est insuffisante. Si la quantité de solvant est élevée, le point représentatif du mélange peut être placé dans la zone hachurée en vert, c'est à dire toujours dans la zone du diagramme correspondant à un mélange ternaire constituant une seule phase. L'extraction n'est, là encore, pas possible car la quantité de solvant est trop importante (1 phase).

On peut donc établir les valeurs des quantités minimale et maximale de solvant permettant de réaliser l'extraction.



5.3.1.1. Quantité minimale de solvant

La quantité minimale de solvant est celle à partir de laquelle on a apparition de deux phases. Le mélange correspondant est défini par le point M_{min} placé sur l'isotherme de solubilité.

Cette quantité minimale de solvant peut être déterminée à l'aide des bilans matières :

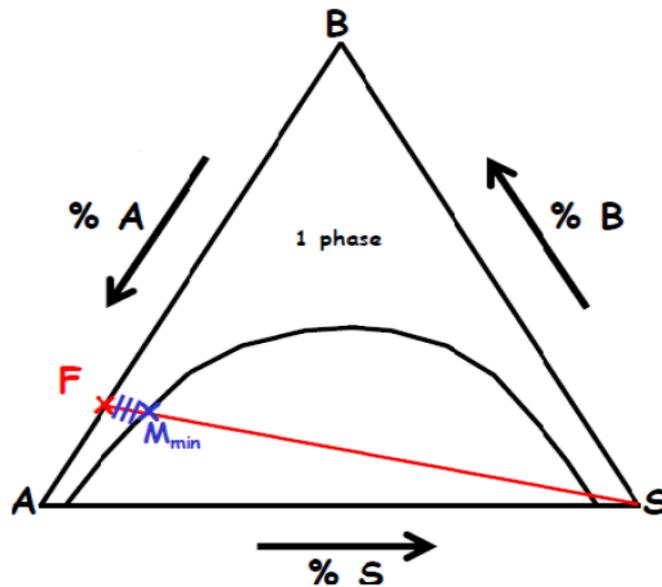
- **Bilan global** : la masse du mélange, M_{min} , est égale à la somme de la masse d'alimentation F , et de la masse minimale de solvant S_{min} .

$$M_{min} = S_{min} + F$$

- **Bilan partiel sur le solvant** : la masse de solvant dans le mélange est égale à la somme des masses de solvant dans chacune des phases initialement introduites.

$$M_{min} X_{SM_{min}} = S_{min} X_{SS_{min}} + F X_{SF}$$

L'alimentation F ne contenant que A et B , $X_{SF} = 0$. En outre, le solvant étant pur, $X_{SS_{min}} = 1$.



Les bilans global et partiel sur **S** deviennent :

$$M_{min} = S_{min} + F$$

$$M_{min} X_{SM_{min}} = S_{min}$$

En remplaçant, dans la seconde équation, **M_{min}** par son expression définie par le bilan global, on établit l'expression de la quantité minimale de solvant nécessaire pour que l'extraction soit réalisée :

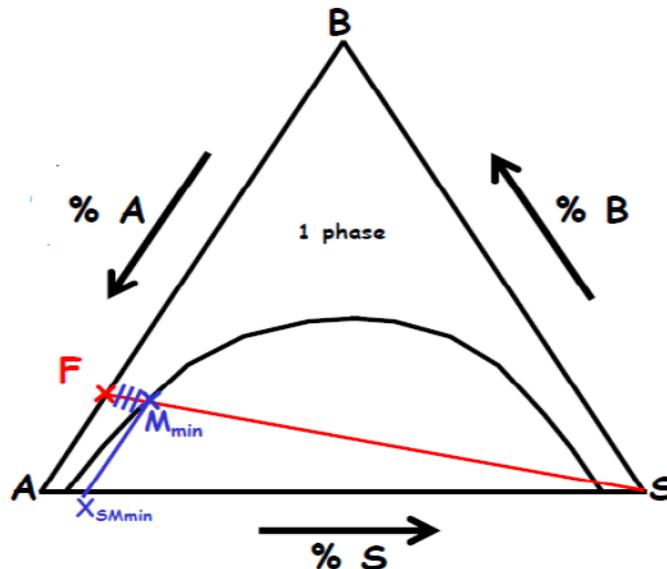
$$S_{min} = \frac{FX_{SM_{min}}}{1 - X_{SM_{min}}}$$

En lisant sur le diagramme le pourcentage de solvant dans **M_{min}**, et connaissant la masse de l'alimentation, on peut calculer cette quantité minimale de solvant.

Le même calcul peut être réalisé en appliquant la règle du bras de levier entre les points **F**, **M_{min}** et **S** :

$$\left[\frac{S}{F} \right]_{min} = \frac{FM_{min}}{M_{min}S}$$

En mesurant sur le diagramme les distances FM_{\min} et $M_{\min}S$, et connaissant la masse de l'alimentation, on peut en déduire la quantité minimale de solvant. $(S/F)_{\min}$ est appelé taux de solvant minimum.



5.3.1.2. Quantité maximale de solvant

La quantité maximale de solvant est celle au-delà de laquelle on n'a plus qu'une seule phase. Le mélange correspondant est défini par le point M_{\max} placé sur l'isotherme de solubilité. Pour déterminer la quantité maximale de solvant, on raisonne de la même manière que pour calculer la quantité minimale de solvant :

- **Bilan global :**

$$M_{\min} = S_{\max} + F$$

- **Bilan partiel sur le solvant :**

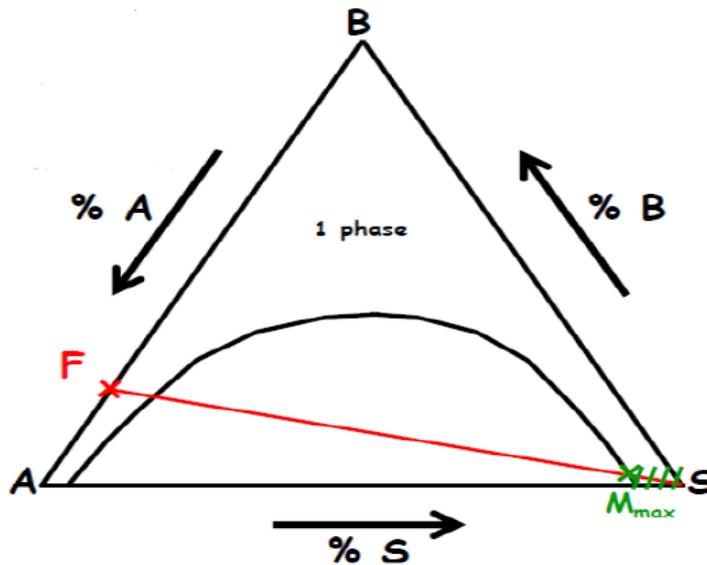
$$M_{\max} X_{SM_{\max}} = S_{\max}$$

D'où :

$$S_{\max} = \frac{FX_{SM_{\max}}}{1 - X_{SM_{\max}}}$$

Le calcul de S_{\max} peut également être effectué en utilisant la règle du bras de levier :

$$\left[\frac{S}{F}\right]_{max} = \frac{FM_{min}}{M_{max}S}$$



L'extraction est possible si M est placé entre M_{min} et M_{max} , c'est à dire si la quantité de solvant S ajoutée à l'alimentation est comprise entre S_{min} et S_{max} .

5.4. Positionnement du point M

Si on ajoute à F une masse S de solvant comprise entre S_{min} et S_{max} , la position de M est définie par le taux de solvant (règle du bras de levier) :

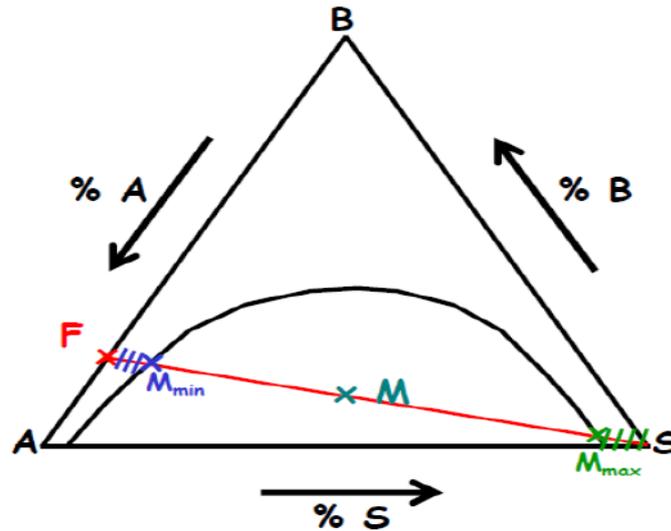
$$\rho = \frac{S}{F} = \frac{MF}{MS}$$

De plus, on peut écrire que la distance totale FS est égale à la somme des distances MF et MS :

$$FS = MF + MS$$

Connaissant les masses de F et S , on peut établir une relation entre MF et MS à partir de la première équation. La seconde équation permet alors de

déterminer l'une des deux distances et de placer le point **M** représentatif du mélange.



On peut également placer **M** en déterminant la composition du mélange (**X_{BM}**, **X_{AM}** et **X_{SM}**). Pour cela, on établit les bilans partiels :

Bilan sur A : $M X_{AM} = F X_{AF} + S X_{AS}$

Bilan sur B : $M X_{BM} = F X_{BF} + S X_{BS}$

Bilan sur S : $M X_{SM} = F X_{SF} + S X_{SS}$

Ces bilans pa :

Le solvant ne contient pas de diluant (**X_{AS} = 0**), le solvant ne contient pas de soluté (**X_{BS} = 0**), l'alimentation ne contient pas de solvant (**X_{SF} = 0**), et le solvant est pur (**X_{SS} = 1**).

L'ensemble de ces équations permet de calculer les compositions massiques du mélange **M** (on pose que $\rho = S/F$) :

$$X_{AM} = \frac{X_{AF}}{1 + \rho}$$

$$X_{BM} = \frac{X_{BF}}{1 + \rho}$$

$$X_{SM} = \frac{\rho}{1 + \rho}$$

Et, par la suite, de placer le point M sur le diagramme.

5.5. Caractéristiques de l'extrait et du raffinat

Le mélange, qui est hétérogène, conduit à deux phases à l'équilibre (l'extrait et le raffinat). Il s'agit de déterminer les compositions et débits de ces deux phases.

•Compositions de E et R

Elles sont déterminées graphiquement. Pour ce qui est de l'extrait, on lit sur le graphe **XBE**, **XAE** et **XSE**. En ce qui concerne le raffinat, on lit sur le graphe **XBR**, **XAR** et **XSR**.

Le mélange, qui est hétérogène, conduit à deux phases à l'équilibre (l'extrait et le raffinat).

Il s'agit de déterminer les compositions et débits de ces deux phases.

•Débits de E et R

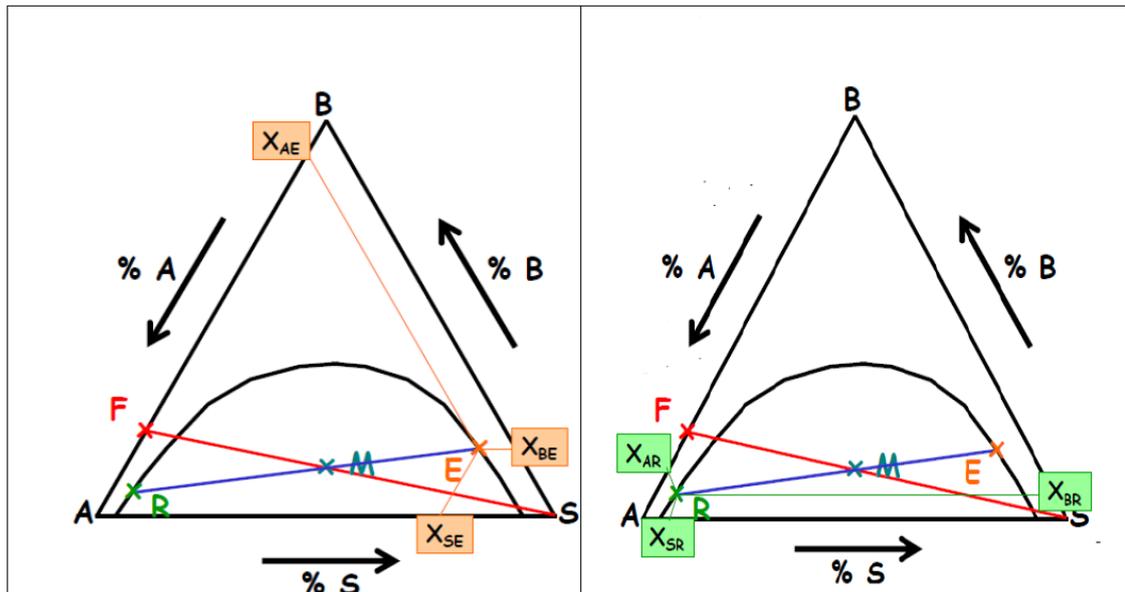
On sait que la masse de mélange est égale à la somme des masses de **F** et **S**. En outre, elle est aussi égale à la somme des masses de **E** et **R**.

$$M = F + S = E + R$$

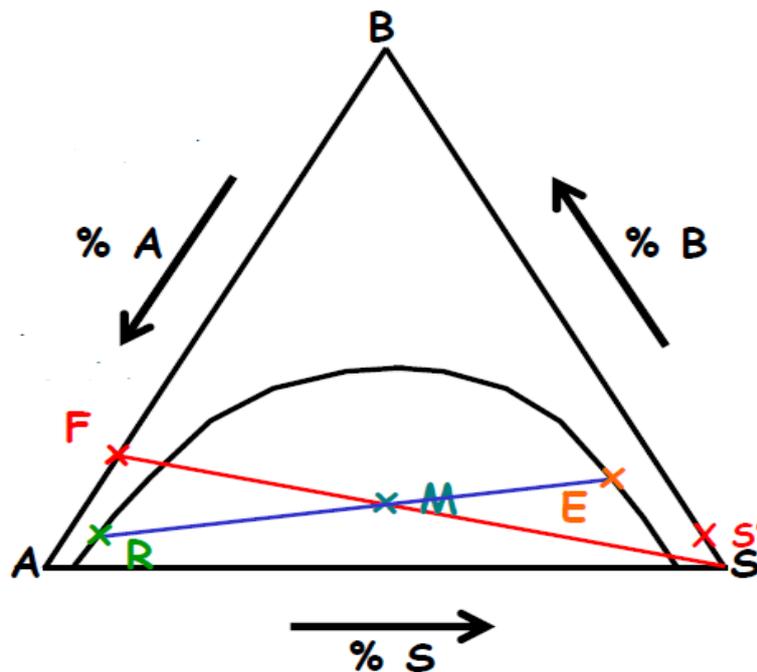
De plus, on peut appliquer la règle du bras de levier entre **R**, **M** et **E** :

De plus, on peut appliquer la règle du bras de levier entre **R**, **M** et **E** :

$$\frac{E}{R} = \frac{MR}{ME}$$



Remarque : Si le solvant n'est pas pur et contient un peu de soluté, le point représentatif sera en S' . Les constructions graphiques et les bilans seront réalisés de manière identique, mais en s'appuyant sur le point S' au lieu de S (attention: dans les bilans, S' contient du soluté).



Chapitre **6**

**SEPARATION PAR CHANGEMENT
D'ETAT
(DISTILLATION)**

6. SEPARATION PAR CHANGEMENT D'ETAT (DISTILLATION)

6.1. Introduction

La distillation est une opération de transfert de matière ayant pour but de séparer les constituants d'un mélange liquide, homogène ou hétérogène basée sur la volatilité d'un mélange vaporisable. 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**

Pour étudier la distillation on a besoin des données relatives dans l'équilibre Liquide-vapeur ; condition de Pression (**P**) et température (**T**) pour que les deux phases "**liq-vap**" soit en équilibre thermodynamique. L'équilibre thermodynamique « **liq-vap** » peut être pratiquement atteint par un contact intense et prolongé des deux phases. Le système étant maintenu à **T** et **P** fixe.

6.2. Définitions

1. Fraction molaire: soit un mélange binaire

n₁ : nombre de mole du constituant **1** dans la phase liquide.

n₂ : nombre de mole du constituant **2** dans la phase liquide.

$$x_1 = \frac{n_1}{n_1 + n_2} \quad x_2 = \frac{n_2}{n_1 + n_2} \quad x_1 + x_2 = 1$$

n_1^* : nombre de mole du constituant 1 dans la phase vapeur.

n_2^* : nombre de mole du constituant 2 dans la phase vapeur.

$$y_1 = \frac{n_1^*}{n_1^* + n_2^*} \quad y_2 = \frac{n_2^*}{n_1^* + n_2^*} \quad y_1 + y_2 = 1$$

2. Pression de vapeur des corps purs « P^0 » : Tension de vapeur

La pression de vapeur mesure la tendance des molécules à s'échapper dans la phase liquide pour engendrer dans la vapeur en équilibre thermodynamique. Cette grandeur est spécifique pour chaque corps à chaque tension de vapeur. Elle est croissante avec la température.

Pour la même température le corps qui exerce la plus grande tension de vapeur c'est le plus volatil.

3. Loi de Raoult : lorsque un liquide étant en équilibre avec sa vapeur. La pression P_i dans la phase liquide est linéaire. Solution idéale obéit à la loi de Raoult.

$$P_i = P_i^0 * x_i$$

P_i : Pression partielle du constituant i dans la phase vapeur.

P_i^0 : Pression partielle de vapeur du constituant i dans la même température du mélange.

x_i : Fraction molaire du constituant i dans la même phase liquide.

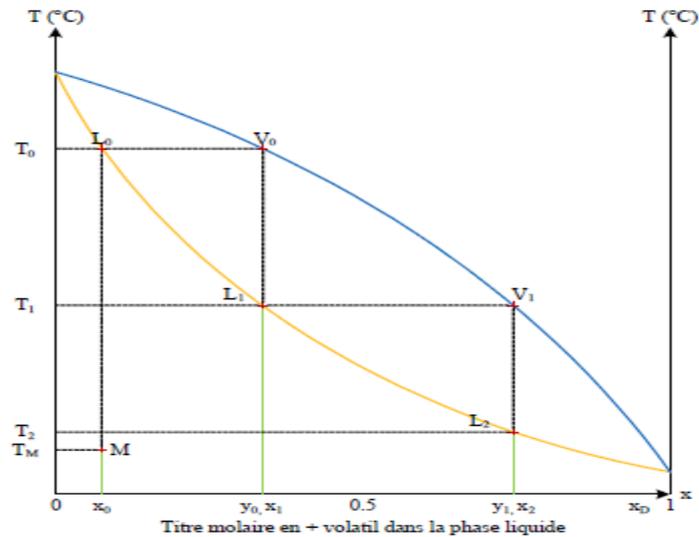
4. Loi de Dalton : un mélange binaire est composé de 2 constituants A et B.

$$P_i = P_T * y_i \quad P_T = P_A + P_B = P_A^0 * x_A + P_B^0 * x_B$$

y_i : Fraction molaire du constituant i dans la même phase vapeur.

5. Equilibre liq-vap à $P = \text{cste}$

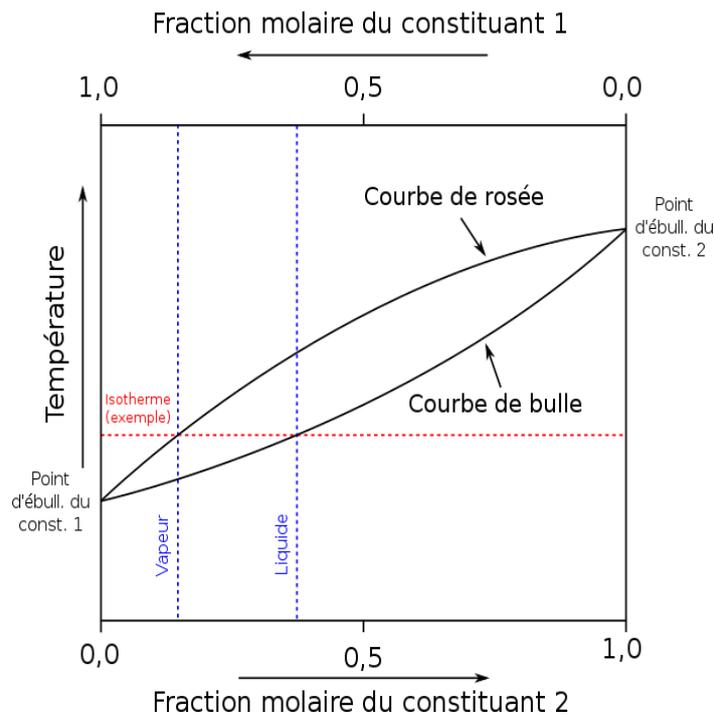
Pour étudier la distillation, on opère à **P** cste et **T** variable car techniquement c'est plus facile de travailler dans les conditions que dans le cas où la **T** cste et la **P** variable.



6. Le point d'ébullition (point de bulle) : d'un corps pur ou d'un mélange liq est la température à laquelle apparaitre la première bulle de vapeur quand on augmente progressivement la température de mélange liquide sous **P=cste**.

7. Le pont de Rosée : (une vapeur pure ou mixte) est la température à laquelle apparaitre la première goutte de liquide lorsque on refroidit cette vapeur à **P=cste**.

La température de bulle et de Rosée d'un corps pur soit identique.



6.3. Mélanges non idéaux

Le mélange idéal n'est qu'un modèle et la grande majorité des mélanges binaires s'écarte de ce modèle. Le mélange n'obéit pas à la loi de Raoult. Pour prendre en compte cette déviation à l'idéalité on introduit un coefficient d'activité γ_B tel que:

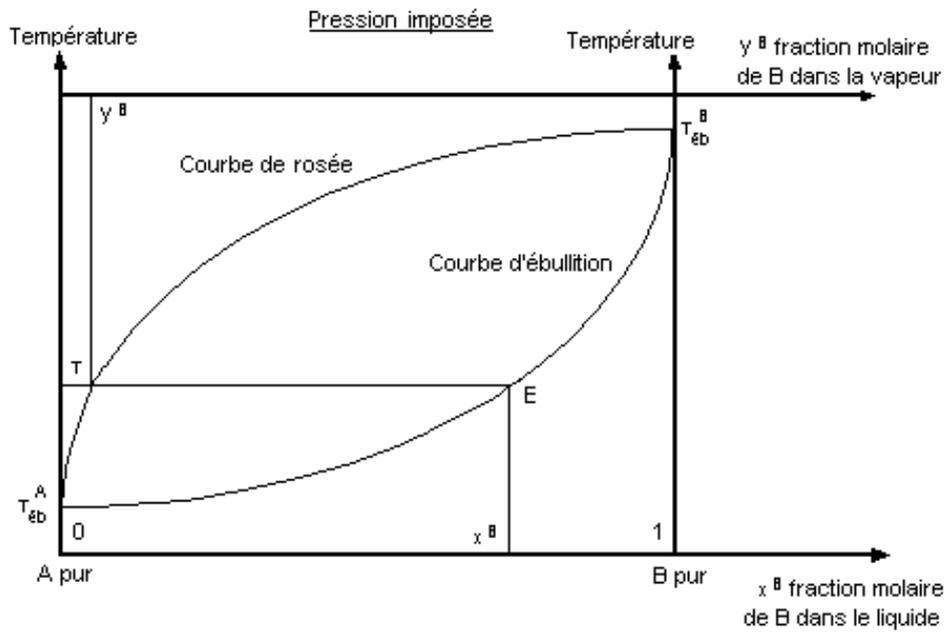
$$P_B = \gamma_B x_B P_B^\circ \text{ (loi d'Henry)}$$

γ_B dépend de x_B , du constituant **A** et de la température.

Suivant l'importance de l'écart existant par rapport au modèle idéal, trois types de mélanges vont exister:

6.3.1. Mélanges zéotropiques

Ce sont les mélanges réels les plus proches du mélange idéal. Le mélange liquide est toujours miscible en toutes proportions. Les allures des courbes des deux sortes de diagrammes isobares sont comparables à celles du modèle idéal. Sur le diagramme isotherme la courbe d'ébullition n'est plus une droite.

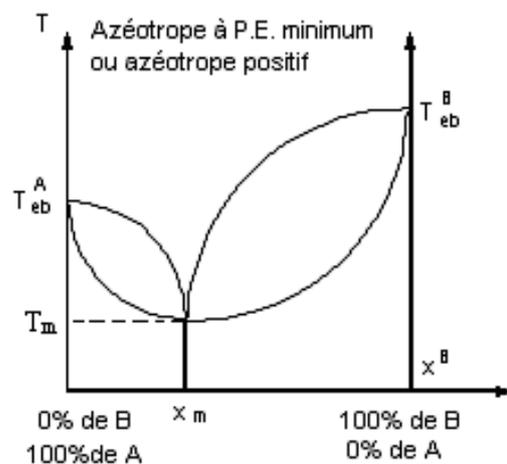
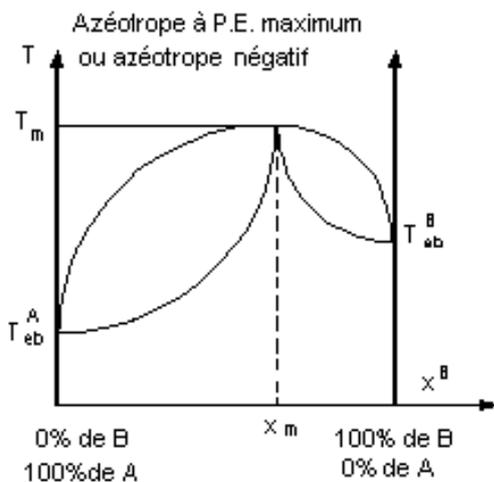


6.3.2. Mélanges homoazéotropes

Il existe deux types de mélanges homoazéotropiques qui sont faciles à visualiser sur les diagrammes isobares simples :

- **mélanges à azéotropie positive** \Rightarrow point d'ébullition minimum.
- (exemple: eau- éthanol)
- **mélanges à azéotropie négative** \Rightarrow point d'ébullition maximum.

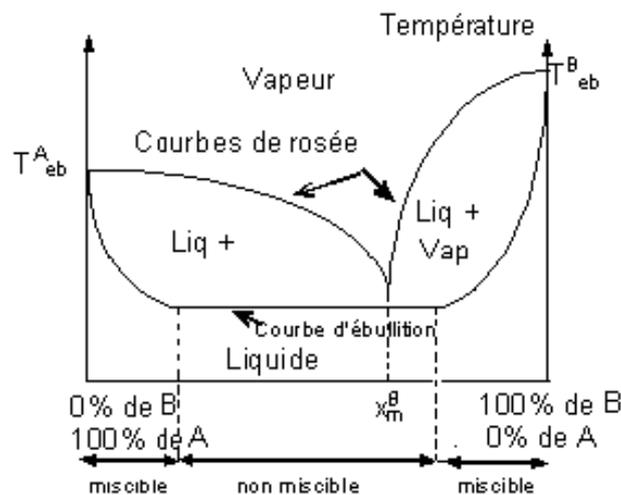
(exemple: toluène- éthanol).



6.3.3. Mélanges hétéroazéotropiques

a. Mélanges à non miscibilité totale (exemple: eau - toluène)

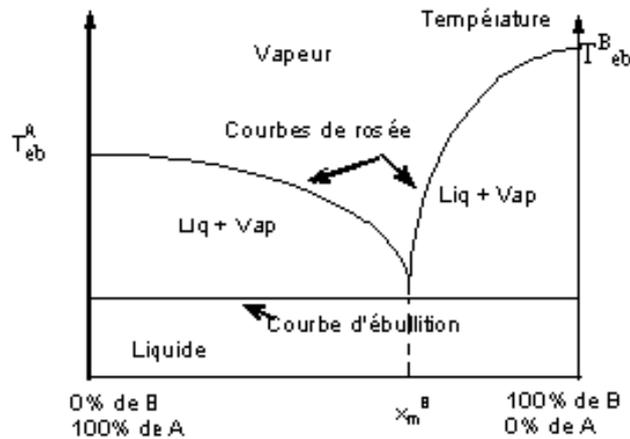
Un tel mélange en dessous de la température d'ébullition se présente en deux couches superposées de liquides purs (deux phases) dont l'ordre est donné par les densités respectives. Si on fixe une pression totale, la température de vaporisation d'un mélange de composition quelconque est fixe. La vapeur émise a même composition quelle que soit la composition initiale du mélange liquide: on nomme hétéroazéotrope la composition de ce mélange. Chacun des constituants se comporte comme s'il était seul dans le mélange. La pression totale de la phase vapeur est donc donnée par la relation suivante à une température θ fixée: $P = P^{\circ}_{A,\theta} + P^{\circ}_{B,\theta}$.



b. Mélanges à non miscibilité partielle (exemple: eau - butan-1-ol):

Un tel mélange présente un cas intermédiaire entre un mélange homoazéotrope et un mélange hétéroazéotrope à non miscibilité totale. Dans le domaine de non miscibilité (la courbe d'ébullition est une droite horizontale) les remarques faites pour le cas de non miscibilité totale s'appliquent. En dessous de la température d'ébullition, le mélange liquide se présente comme la superposition de deux couches de liquides (deux phases) dont la composition est donnée par les limites du palier de non miscibilité (ce ne sont pas deux couches de liquides purs) Aux extrémités des diagrammes on se trouve dans le cas où un constituant est largement majoritaire. On comprend

dans ce cas que la miscibilité soit possible. Dans ces deux domaines les températures de vaporisation ne sont pas fixes.



6.4. Distillation simple

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 volatil 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.

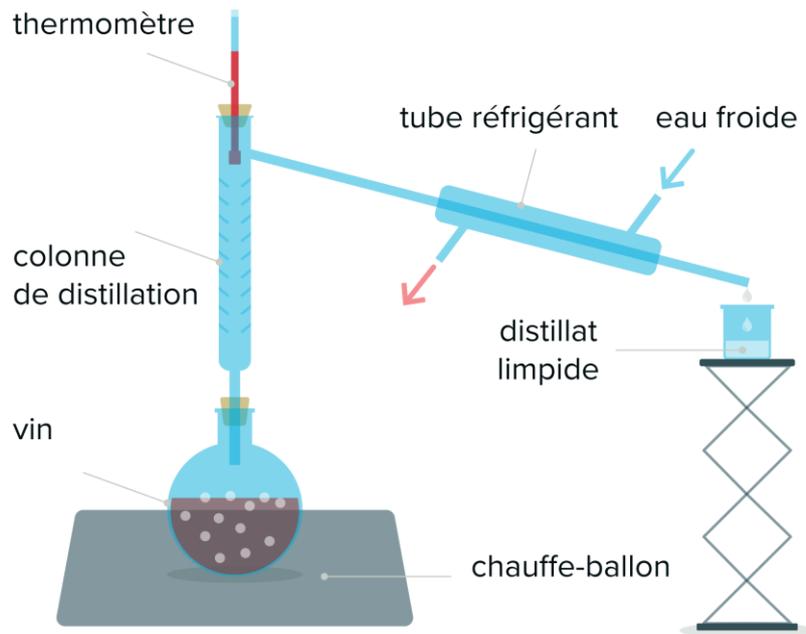


Figure 6.1. Schéma d'une simple distillation

6.5. Distillation fractionnée

Elle consiste à rectifier une charge déterminée d'un mélange binaire ou à constituants multiples, dans une colonne et à recueillir les constituants en tête de colonne, suivant leurs différences de volatilité jusqu'à vaporisation presque complète du mélange. Il n'y a pas d'alimentation en mélange initial, ni d'élimination du mélange résiduel, au cours de l'opération. Elle est applicable lorsque la quantité de mélange à traiter est faible.



F, **D** et **W** représentent respectivement les masses de l'alimentation, du distillat et du résidu.

x_F , **x_D** et **x_W** représentent respectivement les titres massiques en constituant volatil dans l'alimentation, le distillat et le résidu.

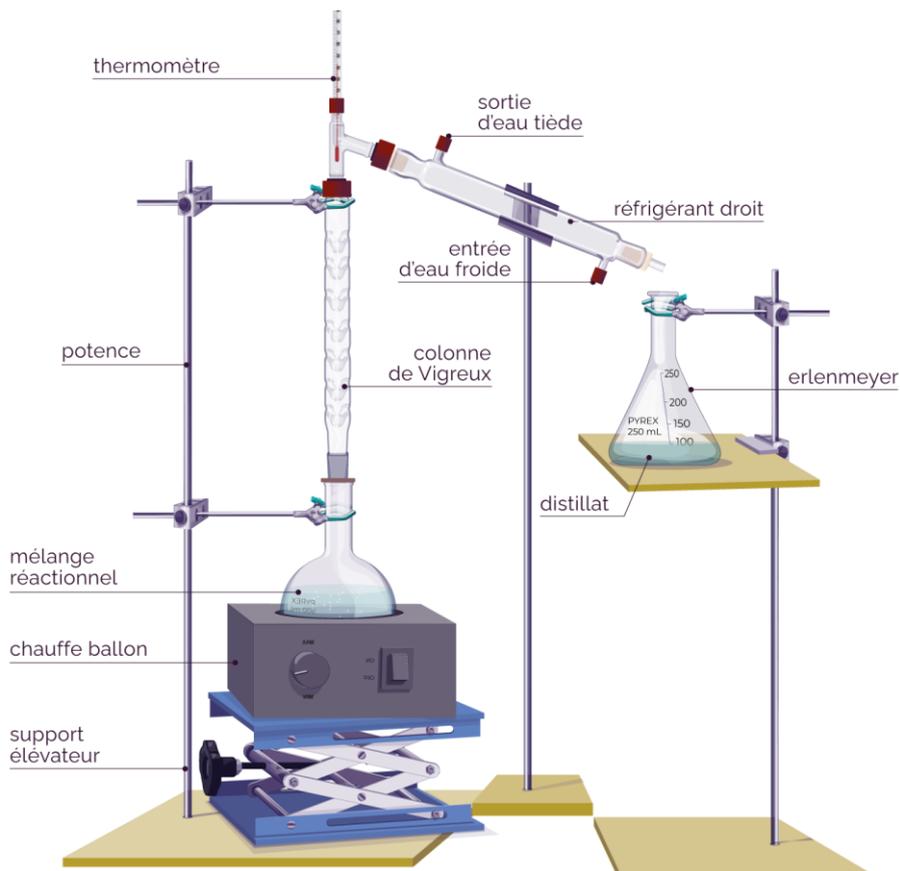


Figure 6.2. Schéma d'une distillation fractionnée

Rappel : Les courbes d'équilibre sont tracées pour des **Titres molaires**, et la plupart du temps les bilans matières sont effectués avec des titres massiques. Il faut donc savoir passer de l'un à l'autre rapidement et facilement.

Soit l'alimentation F constituée d'un mélange binaire de deux produits A et B , de titre massiques respectifs w_{FA} et w_{FB} et de masses molaires M_A et M_B .

$$x_{FA} = \frac{w_{FA}/M_A}{w_{FA}/M_A + w_{FB}/M_B} \qquad x_{FB} = \frac{w_{FB}/M_B}{w_{FA}/M_A + w_{FB}/M_B}$$

À l'inverse il est parfois utile de passer d'un titre molaire à un titre massique, soit le distillat D constituée d'un mélange binaire de deux produits A et B , de titre massiques respectifs w_{DA} et w_{DB} et de masses molaires M_A et M_B .

$$w_{DA} = \frac{x_{DA} * M_A}{x_{DA} * M_A + x_{DB} * M_B} \qquad w_{DB} = \frac{x_{DB} * M_B}{x_{DA} * M_A + x_{DB} * M_B}$$

Bilan matière:

Bilan global : $F = D + W$

Bilan en constituant volatil : $Fx_{FA} = D * x_{DA} + W * x_{WA}$

Bilan en constituant le moins volatil :

$$Fx_{FB} = D * x_{DB} + W * x_{WB} = D * (1 - x_{DA}) + W * (1 - x_{WA})$$

6.6 Rectification continue

En rectification continue, on introduit dans la colonne le mélange à séparer à débit constant. Celui-ci rencontre la vapeur montante du tronçon d'épuisement et le liquide descendant du tronçon d'enrichissement. Le constituant volatil se concentre dans la partie supérieure ; une partie assure le reflux dans la colonne, l'autre constitue le distillat qui est soutirée en continu. Le constituant le moins volatil se concentre en bas de colonne d'où il est éliminé en continu. Il s'établit dans l'appareil un régime stationnaire, ce qui simplifie considérablement l'étude du procédé par rapport à la rectification discontinue où tous les paramètres varient en fonction du temps.

Chapitre **7**

METHODES CHROMATOGRAPHYQUES

7. METHODES CHROMATOGRAPHYQUES

7.1. Historique de la chromatographie

En 1906 un chimiste russe, Tswett, a séparé des pigments végétaux colorés sur une colonne remplie de carbonate de calcium pulvérulent, les pigments étaient entraînés avec de l'éther de pétrole (mélange pentanes et d'hexanes). Il a observé sur la colonne la formation de bandes de couleur différente (vert, orange, jaune..). Il a donné à cette technique le nom de chromatographie (écriture des couleurs). Il a défini également les termes : chromatogramme, élution, rétention. ette technique fut quasi-abandonnée jusqu'en 1930, où Edgar Lederer a purifié par la méthode de Tswett la lutéine du jaune d'œuf.

Vers 1940, Martin et Synge développent la pratique et la théorie de la chromatographie, ils obtiennent le prix Nobel en 1952

En 1952, mise au point de la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).

En 1968, mise au point de la Chromatographie Liquide Haute Performance CLHP ou HPLC en anglais.

En 1979, première séparation chirale par HPLC.

7.2. Principe

La chromatographie est une technique séparative analytique et/ou préparative. Elle consiste à faire migrer les constituants à séparer sur une phase stationnaire immobile, à l'aide d'une phase mobile, liquide ou gazeuse, de nature différente. C'est une méthode de séparation et identification basée sur les différences d'affinités que peuvent présenter deux ou plusieurs composés pour deux phases non miscibles: l'une fixe stationnaire et l'autre mobile.

-Les solutés se partagent entre la phase stationnaire et la phase mobile. Donc la séparation est liée à la vitesse propre d'entraînement du soluté par la phase mobile.

-Les substances qui migrent plus sont celles qui ont les plus d'affinité avec la phase mobile.

- Les substances qui migrent le moins sont celles qui ont les moins d'affinité avec la phase mobile.

- **Soluté:** toute substance, constituant d'un mélange, séparée par chromatographie.
- **Phase mobile PM:** le vecteur, liquide ou gazeux, qui déplace le soluté.
- **Phase stationnaire PS:** le produit qui, par ses affinités avec les solutés, va permettre leur séparation quand la phase mobile les déplace.
- **Support:** Un substrat inerte qui porte la phase stationnaire.
- **Colonne chromatographique:** tube de diamètre et longueur variable, en verre, métal ou autre substance, à l'intérieur duquel s'opèrent les séparations chromatographiques.
- **Valeurs de rétention:** toutes données qui permettent de chiffrer l'action spécifique de la PS sur le soluté, au cours de l'analyse (temps de rétention, volume de rétention...).
- **Chromatogramme:** l'ensemble des réponses successives du détecteur, au cours de l'élution des solutés hors de la colonne.
-

Classification

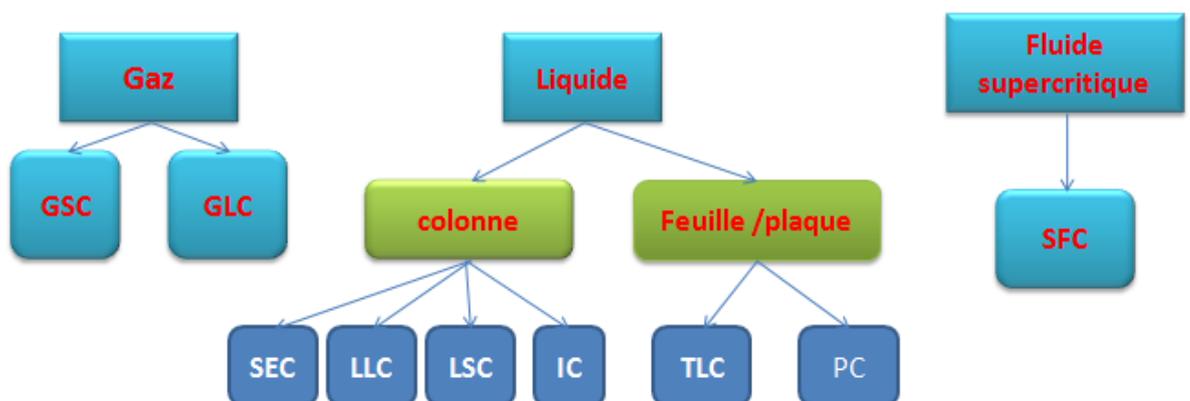


Figure 7.1. Classification des méthodes chromatographiques

7.3. Types de chromatographie

7.3.1. Chromatographie sur colonne

Phase Mobile	Phase Stationnaire	Méthode Chromatographique
Gaz	Solide	C.G.S
Gaz	Liquide	C.G.L
Liquide	Solide	C.L.S
Liquide	Liquide	C.L.L

- Une colonne est remplie avec une phase stationnaire ou fixe.
- Une phase mobile, ou solvant organique (ou mélange de solvants) ou éluant, est introduite au sommet de la colonne et entraîne les constituants (ou solutés) du mélange.
- Le solvant entraîne les molécules de solutés. Il existe une série de transferts entre les 2 phases.
- Les constituants du mélange migrent avec des vitesses différentes. Ils sont élués (déplacés) et recueillis séparément, en solution dans la phase mobile, dans un détecteur de concentration.
- Un chromatogramme présente des pics en fonction du temps.

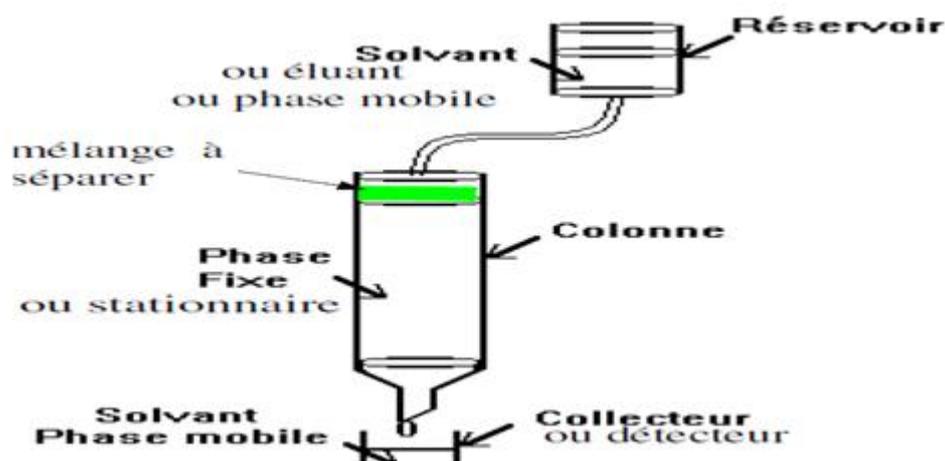


Figure 7.2. Schéma de la chromatographie d'élution sur colonne

7.3.1.1. Grandeurs Chromatographiques (Paramètres caractérisant la rétention)

a. Temps de rétention t_r : temps écoulé entre le début de l'injection et la sortie du produit. t_r dépend du produit **S** et des conditions expérimentales (colonne, température, débit de phase mobile etc.)

b. Volume de rétention V_r : correspond au volume de phase mobile nécessaire pour éluer un produit **S**. Si le débit **D** de la phase mobile est constant:

$$V_r = t_r * D$$

c. Temps mort t_m : temps que met la phase mobile pour traverser la colonne. La phase mobile est caractérisée par sa vitesse linéaire **u** de déplacement. On a :

$$u = L / t_m \text{ (C}_m\text{/min)}$$

u= vitesse linéaire de la PM, **L**= longueur de colonne

En CPG, **t_m**= temps de l'air ou du méthane.

d. Volume mort V_m : Volume occupé par la phase mobile dans la colonne:

$$V_m = t_m * D$$

V_m ne dépend que de la géométrie et du remplissage de la colonne (volume interstitiel accessible).

e. volume et temps de rétention réduits:

Volume de rétention réduit: $V'_r = V_r - V_m$

De la même façon, on définit un temps de rétention réduit t'_r :

$$t'_r = t_r - t_m$$

Les volumes et temps de rétention réduits sont indépendantes des volumes et temps morts, elles dépendent donc moins de l'instrumentation (de la colonne).

f. Facteur de rétention (ou de capacité)

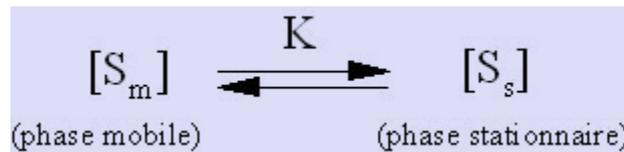
Le facteur de rétention **k'** pour un produit donné est défini comme suit:

$$K' = \frac{V_r - V_m}{V_m} = \frac{V_r'}{V_m} \quad \text{ou} \quad K' = \frac{t_r - t_m}{t_m} = \frac{t_r'}{t_m}$$

Ce qui donne $V_r = V_m(1 + K')$ $t_r = t_m(1 + K')$

g. Rapport de distribution K du soluté

Les séparations chromatographiques sont basées sur la répartition des solutés dans deux phases:



K est égal au rapport des concentrations du soluté A dans les deux phases:

$$K = \frac{[S_s]}{[S_m]} \quad [S_s] = \frac{m_s}{V_s} \quad [S_m] = \frac{m_m}{V_m}$$

- m_m : masse du soluté dissous dans la phase mobile.

- m_s : masse du soluté dissous dans la phase stationnaire.

- V_m : volume la phase mobile (volume mort).

- V_s : volume la phase stationnaire.

$$\beta = \frac{V_m}{V_s} \quad K = \frac{[S_s]}{[S_m]} = \frac{m_s}{m_m} * \frac{V_m}{V_s} = \frac{m_s}{m_m} * \beta \quad K' = \frac{V_r}{V_m} - 1$$

Donc V_r est proportionnel à la masse totale du soluté dissous dans la phase mobile et la phase stationnaire, V_r est proportionnel à $(m_s + m_m)$.

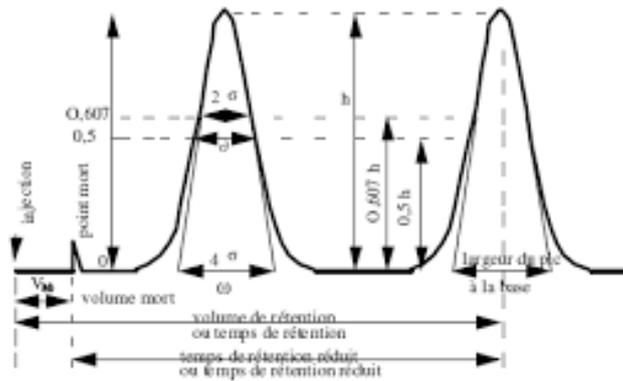
V_m est proportionnel à m_m et à la masse du soluté dissous dans la phase mobile.

$$K' = \frac{m_s + m_m}{m_m} - 1 = \frac{m_s}{m_m} = \frac{[S_s]}{[S_m]} * \frac{V_s}{V_m} = \frac{KV_s}{V_m} = \frac{K}{\beta} \quad K' = \frac{K}{\beta}$$

h. Forme des pics en chromatographie

On assimile les pics en chromatographie à une courbe de Gauss d'équation:

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{2}}$$



Exemple :

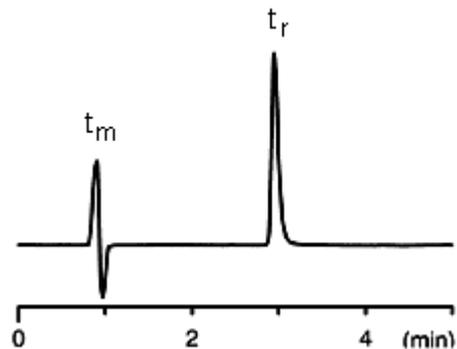
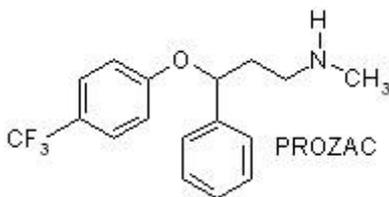
Le chromatogramme du Prozac a été enregistré dans les conditions suivantes :

HPLC. Colonne C18: 15cm x 4.6mm

Phase mobile: acetonitrile / 25mM KH₂PO₄ pH 7.0

Débit: 2mL/min. Température: 30°C

Détecteur UV : 254 nm. Injection: 1µL



On a : t_r= 4 min et t_m= 1 min

$$V_r = t_r * D. \quad (\text{pour le chromatogramme 2, } V_r = 3*2 = 6 \text{ mL})$$

$$u = L / t_m \quad (\text{pour le chromatogramme 2, } u = 15 \text{ cm/mn})$$

$$V_m = t_m * D. \quad (\text{pour le chromatogramme 2, } V_m = 1*2 = 2 \text{ mL})$$

$$V'_r = V_r - V_m \quad (\text{pour le chromatogramme 2, } V'_r = 4 \text{ mL})$$

$$t'_r = t_r - t_m \quad (\text{pour le chromatogramme 2, } t'_r = 2 \text{ min})$$

$$K' = \frac{t_r - t_m}{t_m} = \frac{t'_r}{t_m} \quad K' = \frac{t_r - t_m}{t_m} = \frac{t'_r}{t_m} \quad K' = \frac{3-1}{1} = \frac{2}{1} = 2$$

Pour le chromatogramme, $k' = 2$

7.4. Méthodes chromatographiques

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

- Chromatographie en couche mince (**CCM**).
- Chromatographie en phase gazeuse (**CPG**).
- 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.

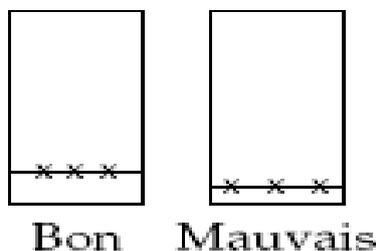
7.4.1. Chromatographie sur couche mince (C.C.M.)

La chromatographie sur couche mince (C.C.M.) est une technique utilisée pour la *séparation et l'identification* d'espèces chimiques contenues dans un mélange.

a. Préparation des plaques

On utilise des plaques en verre recouvertes d'un gel de silice ou du papier Whatman (papier buvard) qui constitueront **la phase fixe** ou **stationnaire**. Sur chacune des plaques, on trace un trait très fin au crayon de papier à 1 cm du bas appelé **ligne de base** ou **ligne de dépôt**, et on repère sur ce trait des positions,

par des croix équidistantes. Dans l'idéal, chaque position doit être au minimum à 1cm des positions adjacentes ou du bord.



b. Dépôts des substances à analyser

Les **dépôts** de chaque substance sont effectués avec des **micropipettes** ou avec des pointes fines en bois (**piques apéritifs**). Il est toujours préférable d'effectuer plusieurs dépôts au même point en séchant rapidement entre chaque application que de faire un gros dépôt unique donnant une tache large et peu précise.

c. Choix de l'éluant

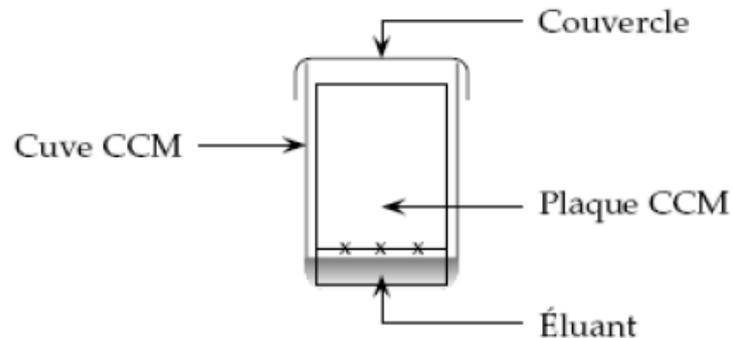
Le **solvant** que l'on va utiliser est appelé **éluant**. Les substances chimiques à analyser sont plus ou moins solubles dans l'éluant ; celui-ci va se déplacer (*migrer*) par capillarité le long de la plaque, entraînant plus ou moins les substances déposées. L'éluant est donc la **phase mobile** de la chromatographie.

c. L'éluion

L'étape d'**éluion** consiste à faire **monter l'éluant sur la plaque par capillarité**. Pour éviter que l'éluant ne s'évapore au fur et à mesure de sa montée sur la plaque, il est *très important* de saturer préalablement la cuve en vapeurs d'éluant, en plaçant l'éluant dans celle-ci au moins dix minutes avant d'introduire la plaque, et en bouchant la cuve.

Le volume d'éluant versé dans la cuve ne doit pas être trop élevé, afin de ne pas submerger les dépôts ; la plaque ne doit pas toucher les parois de la cuve, et

l'ensemble doit être laissé horizontal et parfaitement immobile tout au long de l'étape d'éluion.



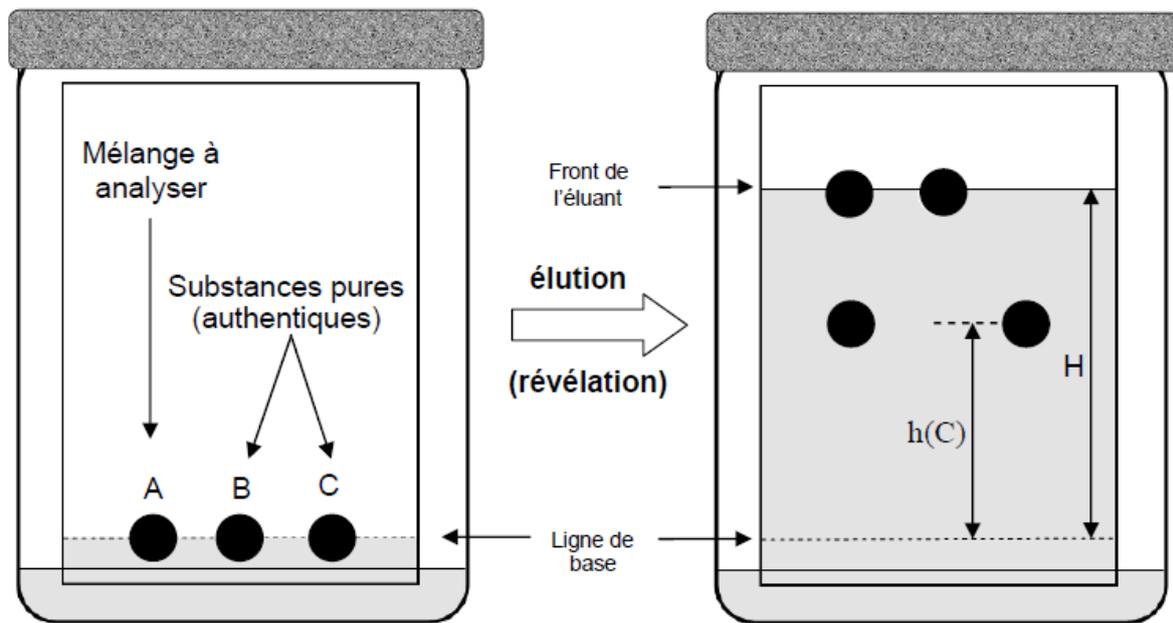
Lorsque le **front de l'éluant** parvient à 1 cm du haut de la plaque, on la retire de la cuve. On repère alors rapidement le front de l'éluant, à l'aide d'un trait au crayon de papier, et on sèche par agitation.

d. La révélation des tâches

Lorsque les substances analysées sont colorées, leur révélation est immédiate; dans le cas contraire, on peut procéder à une révélation :

- Aux ultraviolets ;
- Au diode ;
- Au permanganate de potassium...

On marque au crayon de papier les positions successives atteintes par les divers constituants.



e. Identification des composés chimiques

Deux cas peuvent se présenter :

- On recherche un corps pur particulier parmi tous les constituants d'un des dépôts ; on procède par comparaison avec la tache donnée par l'éluion du corps pur, déposé préalablement sur la même plaque. Sa migration sur la plaque permet de détecter immédiatement la présence ou l'absence du corps pur dans les constituants à analyser.
- On ne connaît rien de la composition supposée des dépôts ; il faut calculer le rapport frontal R_f de chaque tache, ce rapport étant caractéristique pour chaque corps pur.

Le rapport frontal est le quotient de la hauteur atteinte par la substance considérée par la hauteur atteinte par le front de l'éluant :

$$R_f = \frac{h}{H}$$

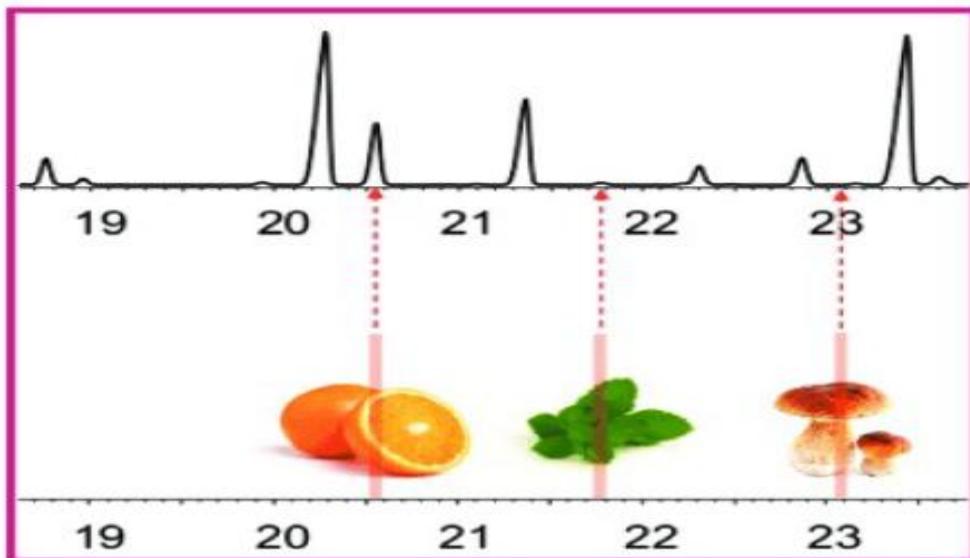
Les hauteurs h et H se mesurent sur la plaque à l'aide d'une règle graduée.

7.4.2. 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.

a. 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 (figure ci-dessous : Exemple d'un chromatogramme de mélange des aliments).



b. 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.

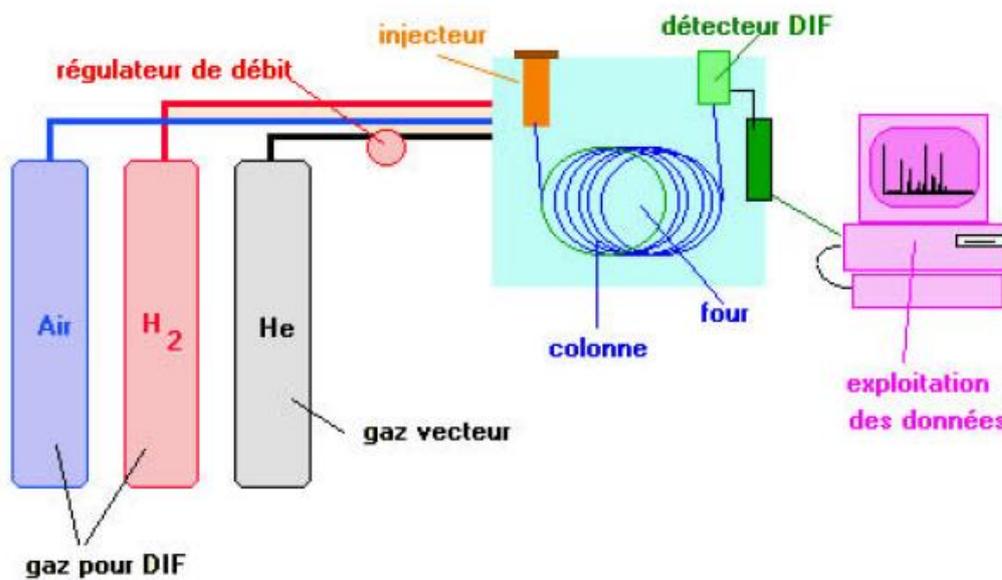


Figure 7.3. Schéma d'un Chromatographe en phase gazeuse (CPG)

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.

7.4.3. 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.

a. 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".

b. Appareillage

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

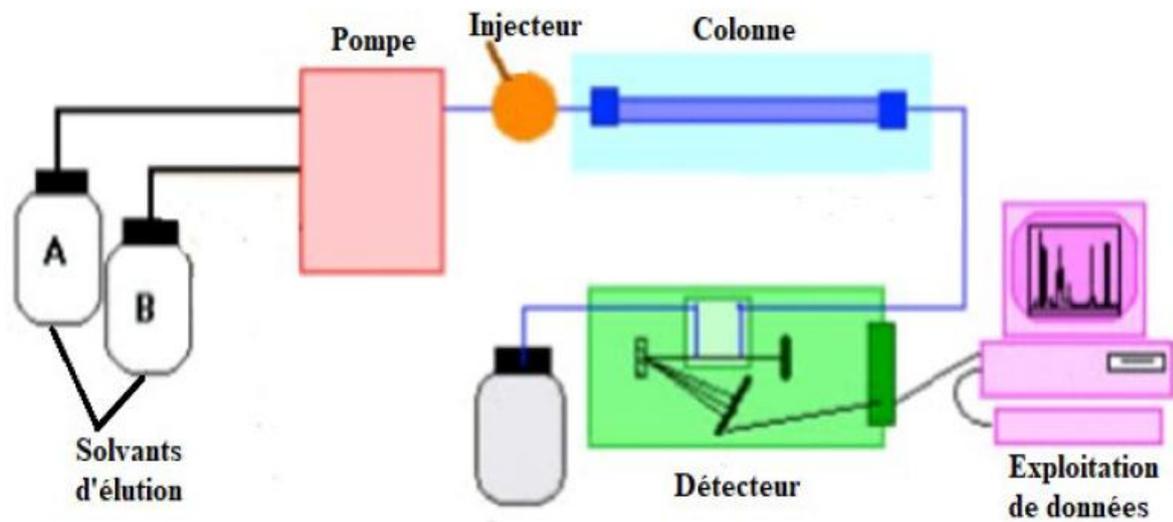


Figure 7.4. Schéma d'un chromatographe Liquide Haute Performance (HPLC)

c. Domaines 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.

BIBLIOGRAPHIE

- M. CHAVANE; G. J. BEAUDOIN; A. JULLIEN; E. FLAMMAND "Chimie organique expérimentale", Modulo Editeur, (1986).
- G. GUICHON; C. POMMIER "La chromatographie en phase gazeuse", Ed. Gauthier- Villars (1971).
- J. TRANCHANT "Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse"; 6^{ème} Ed. MASSON; Paris, New York, Barcelone, Milan, (1-06-1996).
- K. STAVROS "practical Problem solving in HPLC"; Ed. WILEY-VCH Verlag (2000).
- R. P. BUDHIRAJA "Seapartion chemistry new age international" (P) Ltd (2004).
- E.CAUDRON; D. PRADEAU "Chromatographie ionique minérale - Phases stationnaires et méthodes de séparation"; techniques d'ingénieur; (2010).
- F. Rouessac; A. Rouessac; D. Cruché "Analyse chimique Méthodes et techniques instrumentales modernes"; 6^{ème} édition; Dunod, Paris; (2004).
- Sellami Med Hassen "Distillation & Rectification"; Université Kasdi Merbah Ouargla; Fevrier (2015).
- Technologie Génie Chimique (ANGLARET - KAZMIERCZAK) Tomes 2 et 3.
- Techniques de l'ingénieur:articles relatifs à la rectification "la généralisation à l'absorption et à l'extraction liquide-liquide est aussi abordée".
- Mc G.H. PERRY "Chemical Engineer's Handbook".
- E. J. HENLEY; J. D. SEADER (WILEY) "Equilibrium-Stage Separation Operations in Chemical Engineering".
- N. LE BOLAY; G. CASAMATTA "Extractions liquide-liquide", Chapitre 3
- "EXTRACTION A CONTACT SIMPLE"; INP ENSIACET A7 (slideplayer.fr > slide)
- C. WISNIEWSKI "Le traitement des effluents liquides : Les procédés physico-chimiques" ; UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université Montpellier 1 ;(2009/2010).
- webetab.ac-bordeaux.fr "pedagogie".