



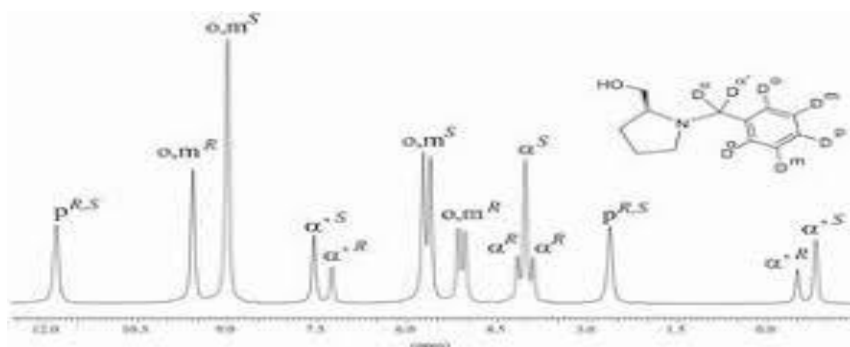
République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Djilali Bounaâma Khemis Miliana
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
Département des Sciences Agronomiques

Chimie Analytique



Dr DAHMANE Thoraya

SOMMAIRE

CHAPITRE I : HYDROCHIMIE

Introduction	1
I.1. L'échantillonnage et analyses	1
I.2. Les techniques de prélèvement	2
I.3. La conservation de l'échantillon	3
I.4. La représentativité de la mesure	3
I.5. Les principales méthodes analytiques in situ et au laboratoire	3
I.6. Le traitement des résultats d'analyses	4

CHAPITRE II : TECHNIQUES D'ANALYSE

Introduction	5
II.1. La distillation	5
II.2. L'extraction	9
II.3. Les précipitations	21
II.4. La filtration	23
II.5. Les techniques chromatographiques (CCM, CPG, HPLC)	28

CHAPITRE I : HYDROCHIMIE

Introduction

L'hydrochimie étudie les processus chimiques qui affectent la distribution et la circulation des composés chimiques des eaux. Pour cela, l'hydrochimie se sert essentiellement de la chimie (acides-bases, précipitations-dissolutions, oxydation- réduction, interactions entre différentes phases, etc.), mais aussi de la biologie et de la géologie.

Plus exactement la détermination de l'origine d'une eau, de sa qualité, suivi de la qualité de l'eau (respect des normes), la détermination des flux. En effet, l'hydrochimie utilise des modèles propres (la dissolution du CO₂, la précipitation et la dissolution des minéraux), des techniques et protocoles d'échantillonnage des eaux et des diagrammes spéciaux d'hydrochimie (Piper, Riverside, etc.)

I.1. L'échantillonnage et analyses

I.1.1. L'échantillonnage

Les principaux renseignements à fournir pour une analyse d'eau sont :

1. L'identité du préleveur (particulier ou autorité demandant l'analyse) ;
2. La date et heure du prélèvement ;
3. Le motif de la demande d'analyse (contrôle périodique, pollution, intoxication, épidémie, etc.) ;
4. Les usages de l'eau (boisson, lavage, incendie, industrie, etc.) ;
5. La ville ou établissement que l'eau alimente ;
6. Le type de traitement utilisé ;
7. Le nom du point d'eau et localisation précise ;
8. L'origine de l'eau (source, puits, forage, rivière, lac, barrage, citerne, etc.).
9. L'aspect particulier (couleur, débris, odeur, etc.) ;
10. La température de l'eau et de l'atmosphère au moment du prélèvement ;
11. Les conditions météorologiques du moment (précipitations, vent, pression atmosphérique, etc.).
12. Le débit approximatif à la minute ou à la seconde ;
13. Dans le cas d'une nappe souterraine, préciser la profondeur et l'épaisseur de cette nappe, la durée du pompage et le débit ;
14. La nature géologique des terrains traversés, aspect du milieu naturel ;

15. Les causes de souillures permanentes ou accidentelles auxquelles l'eau paraît exposée (établissement agricole ou industriel, rejet de ville ou d'usine, puits perdu, cimetière, etc.).

I.1.2. L'analyse

La composition d'une eau en éléments dissous (ou bien la concentration massique des différents solutés) s'exprime habituellement en mg/L pour les éléments majeurs.

Les analyses, initialement faite avec des réactions chimique (dosages) élément par élément, sont maintenant faites avec des méthodes physiques ou physico-chimiques comme : la chromatographie en phase liquide, la chromatographie ionique, la spectroscopie de masse, le *pH*-mètre, conductimètre, la chromatographie à liquide haute pression (anions majeurs : HCO_3^- , Cl^- , SO_4^- , PO_4^{3-} , F^- , NO_3^- , etc...). La spectrométrie de flamme (cations majeurs : Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ , K^+ , etc...), la spectrométrie de masse (isotopes de l'oxygène et de l'hydrogène en particulier), les analyseurs de carbone (carbone organique/carbone inorganique).

I.2. Les techniques de prélèvement

Il existe plusieurs modes de prélèvement, nous citons à titre d'exemple les plus importants :

II.2.1. Le prélèvement instantané

C'est le mode de prélèvement le plus fréquemment utilisé. Les flacons sont remplis sans agiter l'eau au contact de l'air. Pour cela, il est nécessaire d'utiliser un tuyau adapté à la prise d'échantillon et plongeant au fond de la bouteille, de laisser renouveler plusieurs fois le contenu de celle-ci puis boucher aussitôt Certaines analyses (oxygène, gaz carbonique, *pH*...) exigent d'éviter toute agitation et contact avec l'air. Les échantillons pour analyses bactériologiques sont prélevés en flacons stériles après avoir flambé le point de puisage (robinet métallique) et laissé couler l'eau à débit constant pendant une minute environ sous la protection de la flamme avant de prélever. Il est indispensable de noter sur chaque échantillon la date, l'origine et la nature de l'eau.

II.2.2. Le prélèvement composite

Des échantillons moyens sont recueillis lorsqu'on cherche une mesure de qualité moyenne sur une période (par exemple 2 heures ou 24 heures). Un certain nombre d'appareils de prélèvement automatiques permettent de constituer des échantillons proportionnellement au débit.

II.2.3. Le prélèvement avec concentration

Une étape de concentration-extraction est nécessaire pour la mesure de micropolluants organiques ; elle peut être mise en œuvre au laboratoire, mais à partir d'un faible volume ou, directement sur le site, au moyen d'appareils automatiques continus ; dans ce cas, l'échantillon peut correspondre à la concentration de plusieurs centaines de litres prélevés sur plusieurs jours. Trois types de matériel sont utilisés à savoir :

1. Un échantillonneur d'eau pour substances volatiles, en combinaison avec un strippage en boucle fermée ;
2. Un système continu d'adsorption sur résines macroporeuses ;
3. Un extracteur liquide-liquide en continu.

I.3. La conservation de l'échantillon

Pour l'analyse physico-chimique, au moment de prélèvement, il faut respecter les consignes suivantes :

1. La bouteille sera rincée plusieurs fois par l'eau à analyser puis remplie jusqu'au bord et la fermer ;
2. Les prélèvements doivent être scellés et munis d'une étiquette : la date, l'heure et le point de prélèvement ;
3. Pour optimiser un meilleur résultat sur les analyses lors du transport des échantillons, le délai entre le prélèvement et l'analyse au laboratoire doit être le plus court possible ; les échantillons doivent être transportés dans une glacière à une température de 4°C pour les protéger contre le rayonnement solaire.

I.4. La représentativité de la mesure

L'échantillon doit être homogène représentatif et obtenu sans modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'eau, il convient d'avoir des connaissances précises sur les conditions de prélèvement et de son importance pour la fiabilité des résultats.

I.5. Les principales méthodes analytiques in situ et au laboratoire

Certains paramètres peuvent évoluer pendant le transport des échantillons au laboratoire et il est toujours préférable de faire ces déterminations sur le terrain : *pH*, température, O₂, CO₂, H₂S, NH₃, potentiel d'oxydo-réduction, oxydants résiduels.

La mesure de ces paramètres repose souvent sur des méthodes de précision inférieure à celle des méthodes de laboratoire mais l'intérêt de la mesure immédiate peut être prépondérant compte tenu des variations susceptibles d'intervenir durant le transport et la conservation en laboratoire. Par ailleurs, ces analyses sont aussi nécessaires lors de l'étude prolongée d'une eau brute ou d'un effluent en vue de l'établissement d'un projet ou de l'optimisation d'une installation de traitement. Les trois étapes d'études de qualité des eaux naturelles sont les suivantes :

I.5.1. Les méthodes potentiométriques

Ces méthodes mettent en œuvre le plus souvent des électrodes spécifiques qui sont utilisées par immersion dans l'eau ; elles permettent de mesurer : *pH*, potentiel d'oxydo-réduction, oxygène, turbidité, résistivité, fluorures, cyanures, conductivité électrique et TDS.

Le couplage de ces sondes à une unité centrale de saisie de données (microprocesseur ou 337 micros ordinateurs) permet de suivre sur le site l'évolution de la qualité de l'eau dans le temps.

I.5.2. Les méthodes colorimétriques

Ces méthodes mettent en jeu des "réactions colorées" dont l'intensité de la couleur obtenue est évaluée au moyen de comparateurs possédant des disques, plaquettes ou bandes colorées servant d'étalons.

I.5.3. Les méthodes volumétriques

De nombreux paramètres sont déterminés par volumétrie (alcalinité, dureté totale, dureté calcique, chlorures...). Des malles contenant de la verrerie classique de laboratoire permettent ces déterminations (burettes, erlenmeyer, éprouvettes graduées, fioles, etc...).

I.6. Le traitement des résultats d'analyses

Dans tous les cas, l'eau mise à disposition du consommateur dans le réseau de distribution doit être traitée, même si l'Homme n'en consomme directement qu'une très faible proportion. Il est en effet dangereux pour la santé et économiquement prohibitif d'envisager un double réseau de distribution, l'un des réseaux distribuant l'eau destinée à la consommation et l'autre réseau distribuant l'eau destinée aux autres usages. Quel que soit l'usage qu'en fera le consommateur, l'eau arrivant au robinet de ce consommateur doit donc être potable, Il est nécessaire de traiter l'eau chaque fois que l'un des paramètres analytiques est supérieur aux normes en vigueur dans le pays considéré. L'OMS) établit pour chaque paramètre, des recommandations qui doivent être adaptées dans chaque pays, en fonction de l'état sanitaire et des considérations économiques de ce pays, pour aboutir aux normes réglementaires nationales.

L'analyse un échantillon d'eau doit répondre aux normes internationales paramètres physicochimique et biologique aussi.

CHAPITRE II : TECHNIQUES DE SEPARATION & D'ANALYSE

INTRODUCTION

Les besoins de l'industrie chimique répondent à des spécifications données, nécessitant une séparation préalable en différents constituants ou en différentes fractions, pour cela il existe plusieurs méthodes de séparation, décrites comme un ensemble des procédés mécanique, physique et chimique qui 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 doit 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, la séparation du mélange hétérogène s'effectue dans un appareillage à décantation, tandis que le mélange homogène nécessite la mise en œuvre de divers procédés parfois complexes.

II.1. Distillation

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 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 : la distillation simple et la distillation actionnée.

II.1.1. Distillation simple

II.1.1.1. Principe

Le principe de la distillation est très simple : on chauffe un mélange de liquides jusqu'à atteindre le point d'ébullition d'un des constituants : le plus volatile s'évaporerait 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 :

1. Chauffer un liquide impur ou un mélange de liquides pour les transformer en vapeurs par ébullition.
2. 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.

II.1.1.2. Montage

Le montage se fait en partant du 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 fait dans l'ordre inverse (**figure n° 01**).

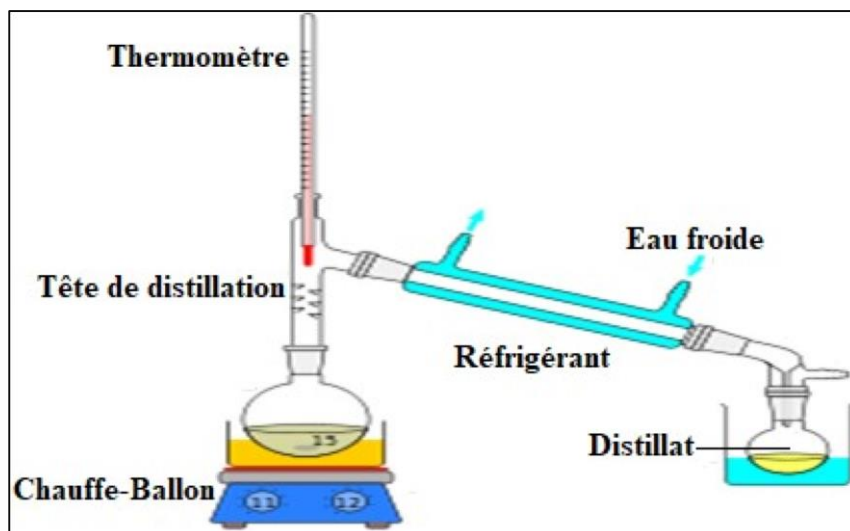


Figure n° 01 : Schéma d'une simple distillation

II.1.1.3. 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 il s'évapore 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.

II.1.2. 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.

II.1.2.1. 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.

II.1.2.2. 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 n° 02**).

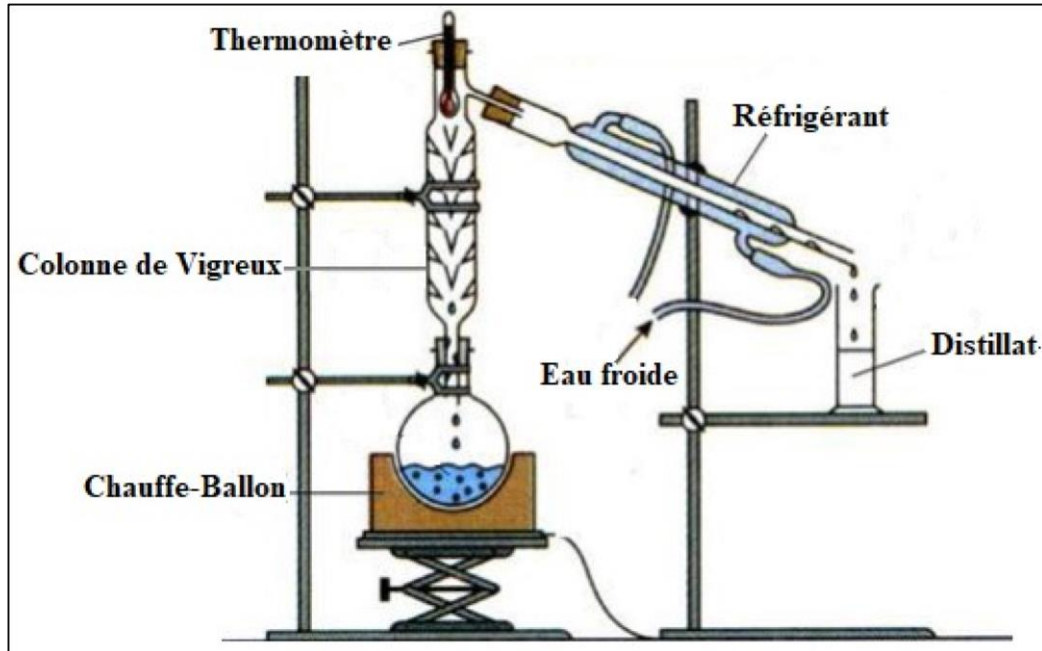


Figure n° 02 : Schéma d'une distillation fractionnée

II.1.3. 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.

Sur le plan historique, le développement des procédés d'extraction remonte à l'antiquité. Par exemple, les colorants ont toujours joué un rôle très important dans la vie de l'Homme. Des fragments de tissus teints à partir de garance, datés de plus de 3500 avant J.C, ont été découverts dans les ruines de certaines civilisations Indiennes et Egyptienne.

DIOSCORIDE PEDANIUS, médecin Grec au premier siècle de notre ère, avait écrit un ouvrage sur la matière médicale qui fut reproduit au Moyen âge par les arabes. Il a recherché les origines de la distillation. Ainsi, l'Egypte fut un berceau de cette technique. Par la suite, AVICENNE médecin et philosophe musulman fut l'un des premiers chercheurs qui a élaboré un procédé d'extraction des H.Es par entrainement à la vapeur d'eau au début du 15^e siècle.

Au début du 16^e siècle, PARACELSE, médecin Suisse père de la pharmacognosie étudia l'âme des végétaux sous forme de quintessence (5^e essence) à laquelle le nom d'esprit a été donné, puis il lui attribua le nom d'essence et finalement le nom d'H.E.

Plus tard au 18^e siècle, commence l'utilisation des solvants d'origine pétrochimique pour extraire les matières naturelles. En 1870, l'extraction par solvant a été mise en œuvre comme un procédé industriel en Europe. Il est à noter que vers les années 1905 - 1910, le naphte et le gasoil commencent à être extraits. LIKENS et NICKERSON en 1964, inventent un procédé de distillation-extraction simultanée pour l'industrie de la bière. Leurs travaux ont constitué la base d'innombrables recherches afin d'améliorer la qualité des produits et réduire les temps d'extraction.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des H.Es. Ainsi, le choix de la méthode dépend de la plante elle-même, de la partie du végétal à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire et de son usage aussi.

II.2. 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 principaux composants du mélange alors que le composé à extraire possède plus d'affinité avec le moyen d'extraction qu'avec les principaux composants 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.

II.2.1. 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.

II.2.2. 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)

II.2.3. 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.

II.2.3.1. 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 (**figure n° 03**).

- 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.

II.2.3.2. 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.

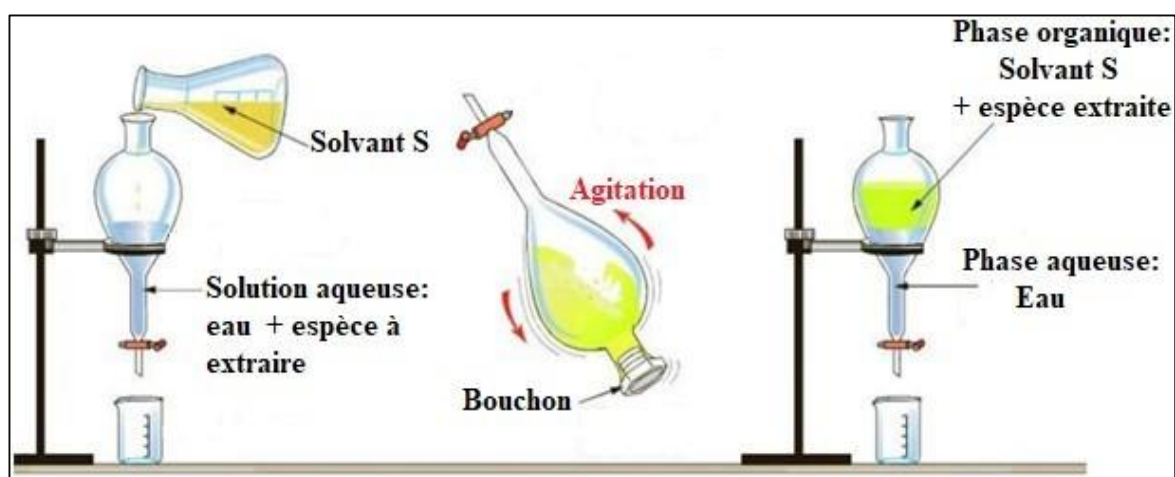


Figure n° 03 : Schéma d'extraction liquide-liquide

II.2.4. 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, essences naturelles, etc...).

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 (**figure n° 04**).

II.2.4.1. 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.

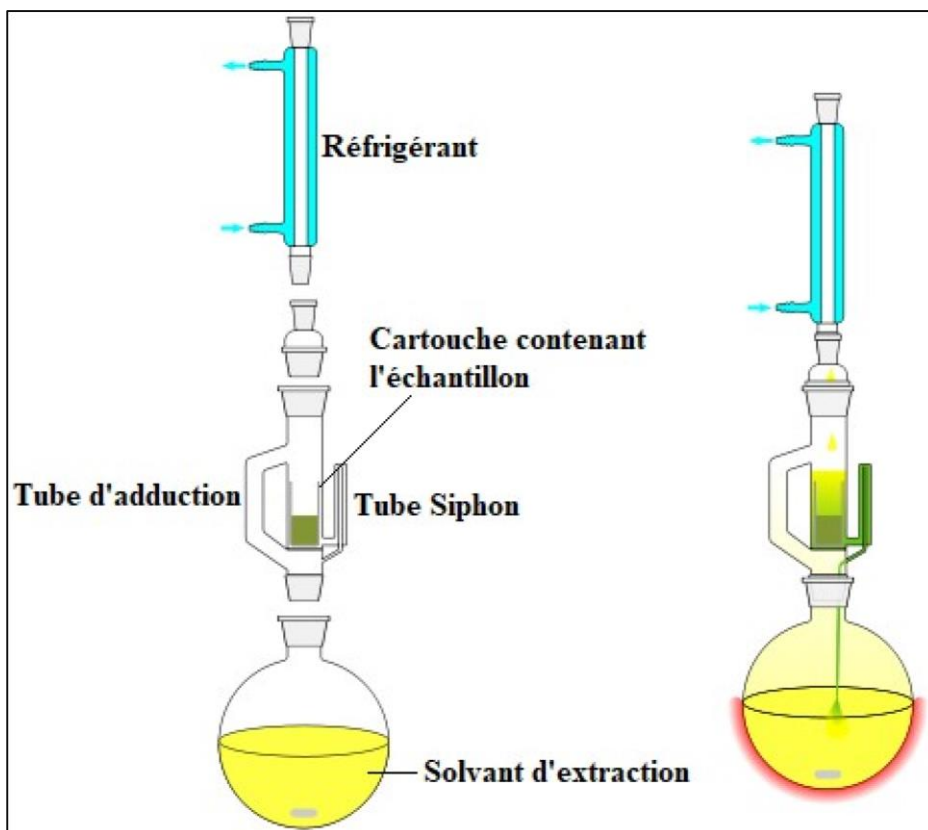


Figure n° 04 : Schéma d'un appareil de Soxhlet

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.

II.2.4.2. 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.

II.2.4.3. Extraction par distillation

Il existe plusieurs procédés fondamentaux selon la texture et la fragilité de la matière première à traiter (matière végétale) :

- **Hydrodistillation** : le protocole d'extraction consiste à immerger le matériel végétal à extraire directement dans un alambic rempli d'eau, qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une plaque froide et l'H.E se sépare par différence de densité. Elle est réalisée généralement sous pression atmosphérique.

- **Distillation par entraînement à la vapeur d'eau** : dans ce procédé, la matière première à traiter n'est pas en contact direct avec l'eau. La vapeur d'eau fournie par une chaudière est injectée à travers la masse végétale disposée sur des plaques perforées. Sous l'action de la chaleur l'H.E est vaporisée pour former un mélange avec la vapeur d'eau. Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur où les composés volatils se séparent par décantation du distillat refroidi. Elle est pratiquée sous pression atmosphérique ou en surpression modérée à 100 °C. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, évite certains phénomènes d'hydrolyse qui limite l'altération de l'H.E recueillie. Cette méthode apporte également l'avantage de raccourcir le temps du traitement et économiser l'énergie BRUNETON et LUCCHESI.
- **Distillation mixte** : il s'agit d'un processus de distillation double qui fusionne l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. Au cours de l'extraction, la matière végétale plongeant dans l'eau bouillante est traversée par un courant de vapeur d'eau. De ce fait il résulte que les deux phénomènes d'extraction se trouvent combinés.
- **Hydrodiffusion** : le principe de cette méthode réside dans l'utilisation d'un flux de vapeur descendant à très faible pression (0,02 - 0,15 bar), dispersé à travers la matière végétale.
- **Expression mécanique (à froid)** : cette méthode est réservée aux H.Es des fruits d'hespéridés (agrumes). Le principe de cette technique consiste à exercer, sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Ainsi, l'H.E est séparée de la phase aqueuse par centrifugation après élimination des déchets solides.
- **Extraction par solvants volatils** : cette technique d'extraction par solvant est très classique, elle consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques. Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation, car cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau. Cette méthode d'extraction présente les inconvénients de la non sélectivité et de toxicité qui sont dues à la possibilité de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficile à éliminer ; ce qui impose une purification ultérieure. Les solvants d'extraction doivent être de qualité agro-alimentaire, on recense : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane.
- **Extraction par utilisation des corps gras (Enfleurage)** : ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. L'extraction se

fait soit par diffusion à froid vers le corps gras, ou par immersion des organes végétaux dans le corps gras fondu. IL s'agit de la digestion ou l'enfleurage à chaud.

- **Extraction par CO₂ super critique** : grâce à la solubilité des constituants des H.Es dans le CO₂ et son état physique, ce dernier permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Ensuite, il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. L'H.E est alors dissoute dans le CO₂ sous forme de fluide. Ainsi, le CO₂ est rendu à l'état gazeux et se sépare du composé extrait dans un séparateur, avant d'être envoyé dans le liquéfacteur pour être réutilisé.
- **Extraction par micro-onde** : ce procédé est basé sur l'absorption de l'énergie d'un rayonnement micro-onde par les composantes du matériel végétal sous pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte d'extraction. Cette absorption dépend de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal. A l'aide d'un chauffage instantané, l'eau constituant la matière végétale traitée rentre dans le processus d'extraction des essences. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et enfin la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants : rapidité du temps, économie d'énergie et d'eau, et donne un extrait dépourvu de solvant résiduel.

II.2.4.4. Extraction simple

L'extraction simple consiste à mettre le végétale en contact direct ou indirect avec le solvant d'extraction.

- **Lixiviation ou lessivage (leasing)** : lors cette opération, le solide est finement coupé. Ensuite, il est mis en contact avec un solvant d'extraction chaud ou froid, qui solubilise le soluté.
- **Percolation** : le principe de cette méthode consiste à laisser couler un solvant, régulièrement chaud sur un lit de solide finement fractionné, dont le but est de dissoudre les composants solubles que contient le solide.
- **Infusion** : le principe de cette technique consiste à mettre de l'eau bouillante en contact avec le végétal placé dans un récipient. On les laisse bouillir quelques secondes. Après, on couvre le récipient. Le temps d'infusion est variable selon l'indication, de 5 à 15 min en moyenne, c'est un mode d'extraction très simple et très facile à réaliser.

- **Macération** : c'est un processus d'extraction à température ambiante (15 à 20 °C). Le végétal est laissé tremper dans un solvant (eau, alcool, huile, miel ou bien vin). Le temps de macération dépend des propriétés intrinsèques de la préparation. La macération à l'eau ne doit pas se prolonger trop longtemps pour éviter tout risque de fermentation.
- **Décoction** : lors cette opération, le végétal est mis directement à bouillir dans le liquide d'extraction.
- **Digestion** : c'est une macération à chaud. Le végétal est maintenu en contact direct avec l'eau potable à une température inférieure à celle de l'ébullition mais supérieure à la température ambiante et ce pendant 5 h.
- **Elution** : elle consiste à enlever un soluté fixé à la surface d'un solide par un simple contact avec un solvant, c'est une opération complémentaire à la fixation dans les opérations d'échange d'ions. Elle est fréquemment employée dans les méthodes d'analyse comme la chromatographie.

II.2.5. Différentes formes d'utilisation des extraits

L'extraction est un processus qui fait passer en solution, sous l'action d'un liquide (eau ou alcool), les substances actives d'une drogue. Il existe plusieurs formes, elle peut avoir lieu à froid ou à chaud suivant le mode d'extraction et la nature du solvant utilisé.

II.2.5.1. Extrait

L'extrait est une macération aqueuse ou alcoolique plus ou moins concentrée par évaporation. Ainsi, on peut avoir des extraits fluides, épais ou solides.

II.2.5.2. Concrète

C'est un extrait à odeur caractéristique, obtenu par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux, d'une matière première fraîche d'origine végétale, après l'élimination de ce solvant par un procédé physique. Dans la pratique courante on parle plus d'essence concrète ou, plus simplement d'essence.

II.2.5.3. Pommade florale

Une pommade florale est un corps gras parfumé obtenu à partir des fleurs soit par « enflourage à froid », lors de la diffusion des constituants odorants des fleurs dans le corps gras, soit par « enflourage à chaud », qui est une digestion ou immersion des fleurs dans le corps gras fondu.

II.2.5.4. Résinoïde

C'est un extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux suivie de l'élimination de ce solvant par un procédé physique. Les résinoïdes sont généralement des essences produites par les conifères. Ils se transforment en résine après oxydation.

II.2.5.5. Absolue

Il s'agit d'un produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante, après l'élimination des cires naturelles (substances saponifiables des acides gras). La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires. Aussi, l'éthanol est ensuite éliminé par distillation pour obtenir une absolue.

II.2.5.6. Camphre ou stéaroptène

Après le refroidissement des H.Es, on obtient parfois des précipités appelés camphre ou stéaroptène, telle que le camphre de l'H.E de l'*Eucalyptus citriodora*.

II.2.5.7. Elixir

L'elixir est un mélange d'alcoolat avec des suspensions sucrées qui donnent des sirops.

II.2.5.8. Intrait

L'intrait est une substance obtenue par fixation des principes actifs de certaines plantes juste après leur cueillette par les vapeurs d'eau chaude.

II.2.5.9. Huile essentielle

C'est une substance volatile obtenue à partir de la distillation des végétaux dans l'eau courante.

II.2.6. Exemple de l'extraction par hydrodistillation d'une HE

L'hydrodistillation consiste à distiller un composé par entraînement à la vapeur d'eau. C'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.

II.2.6.1. 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 n° 05**).

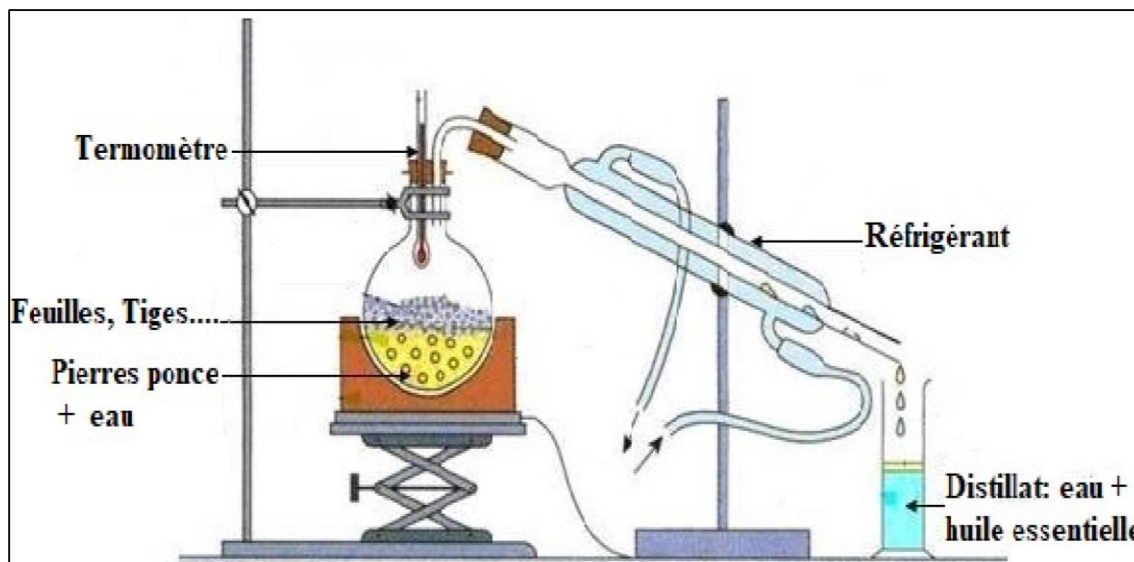


Figure n° 05 : Schéma d'un montage d'hydrodistillation

II.2.6.2. Cinétique d'extraction des H.Es

Pour calculer le rendement d'extraction et déterminer la cinétique d'extraction de l'H.E par la méthode d'hydrodistillation, on a utilisé le dispositif de CLEAVENGER (1928) modifié selon la PHARMACOPEE EUROPEENNE.

II.2.6.2.1. Principe

C'est l'évolution de la quantité de l'H.E extraite à partir d'une masse végétale donnée en fonction d'un temps bien précis. Le but de cette opération est d'optimiser le temps idéal de l'extraction des H.Es.

II.2.6.2.2. Mode opératoire

On a procédé à l'extraction par hydrodistillation, 100 g de MVF ont été introduits dans un ballon à col rodé de 2 L, ce ballon a été rempli d'eau jusqu'à 2/3 de son volume.

Ensuite il a été relié directement à un réfrigérant et porté à ébullition sur un chauffe-ballon pendant 180 min découpée sur plusieurs intervalles de temps.

Après l'ébullition de l'eau, les vapeurs d'eau dégagées, entraînent les constituants volatils qui deviennent chargées en H.E, elles passent dans le réfrigérant où la température est inférieure à 20 °C. A ce moment-là, elles rencontrent un courant froid qui les condensent et les liquéfient en gouttelettes pour constituer le distillat.

On a commencé à compter le temps de la cinétique, juste au moment de l'apparition de la première goutte de distillat, comme c'est indiqué dans le tableau suivant :

Tableau : Cinétique d'extraction des H.Es

N° de l'erien	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Temps (min)	0	5	10	15	30	45	60	90	120	150	180	240
	5	5	5	5	15	15	15	30	30	30	30	60

Ce tableau montre l'évolution de la quantité de l'H.E en fonction des différentes fractions du temps.

A la fin de l'extraction, le distillat qui a été récupéré dans des erlens, il a été transvasé dans des ampoules à décanter et mélangé avec l'éther diéthylique pour récupérer les H.Es obtenues à différents intervalles de temps.

Après un temps de repos de 30 min, on a remarqué l'apparition de deux phases distinctes non miscibles, l'une étant aqueuse et plus dense occupe la partie inférieure. Tandis que l'autre est moins dense et de nature organique occupe la partie supérieure, elle est constituée d'H.E dissoute dans l'éther diéthylique. Dans le cas où la séparation de ces deux phases n'est pas claire on ajoute à l'aide d'une spatule, une petite quantité de NaCl.

Pour une bonne décantation, la phase inférieure a été éliminée, et la phase supérieure, a été laissée reposer dans l'ampoule à décanter. Puis elle a été passée sur un papier filtre contenant du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) pour piéger les molécules d'eau qui pouvaient être présentes dans cette phase.

Ensuite, cette phase huileuse a été récupérée dans des tubes à essai vides préalablement pesés, ces derniers ont été laissés à l'air libre permettant ainsi l'évaporation totale de l'éther diéthylique. Après l'évaporation totale du solvant, les tubes pleins contenant l'H.E ont été pesés à nouveau, la différence du poids entre les tubes pleins et les tubes vides constitue la masse de l'H.E récupérée.

II.2.6.3. Extraction à l'échelle pilote

II.2.6.3.1. Principe

Afin d'obtenir une quantité considérable d'H.E, on a utilisé l'extracteur pilote. C'est un grand appareil de distillation composé d'un alambic d'une capacité de 100 L, d'un panier, d'un condenseur, d'un système de cohobage, d'un essencier et d'un tableau de commande pour le contrôle et le réglage des paramètres opératoires.

II.2.6.3.2. Mode opératoire

Pour commencer l'extraction, l'alambic a été rempli d'eau à 2/3 de sa capacité et le panier a été chargé de 15 kg de MVF. Par la suite, l'alambic a été fermé et mis en marche tout en fixant le débit d'eau dans le condenseur.

Au moment où la température d'eau atteint les 100 °C, les vapeurs chargées d'H.E passent dans le condenseur et le distillat se concentre dans l'essencier. Ainsi, le niveau du mélange eau-H.E (distillat) augmente progressivement.

A la fin, on a arrêté l'extraction après 1 h et 30 min de l'apparition des premières gouttes du distillat dans l'essencier.

II.2.6.4. Décantation

II.2.6.4.1. Principe

La séparation des deux phases aqueuse et huileuse a été faite par décantation, l'H.E de faible densité remonte en haut, et l'hydrolat reste en bas.

II.2.6.4.2. Mode opératoire

Le distillat a été mis dans une ampoule à décanter, après un temps de repos de 60 min, l'H.E s'est concentrée en haut et l'hydrolat en bas.

Après l'élimination de la phase aqueuse, l'H.E a été stockée au laboratoire d'analyse, dans des vials en verre opaques, hermétiquement fermés et tenus à 4 °C à l'abri de la lumière pour éviter toute dégradation. L'H.E obtenue à l'aide de l'extracteur pilote, est une huile bio exempte de solvant organique.

II.3. 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».

II.3.1. 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 (**figure n° 06**).

II.3.2. Schéma de précipitation

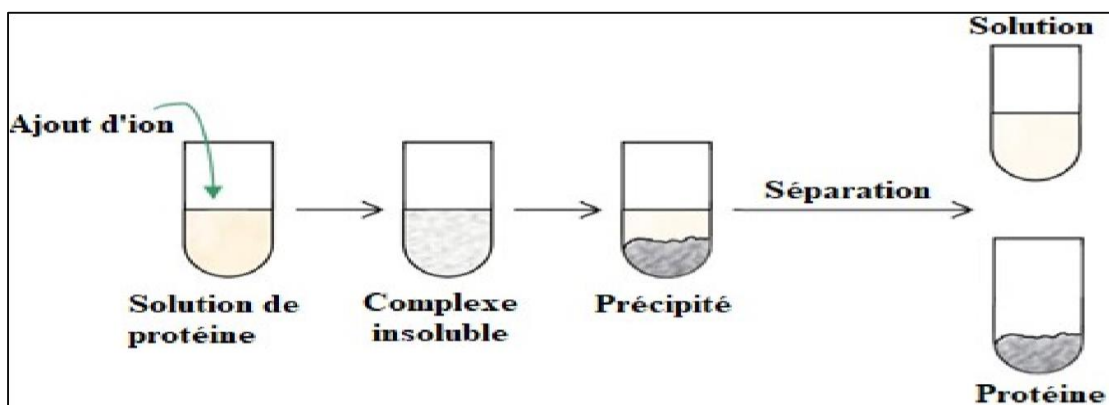


Figure n° 06 : Protocole de précipitation

II.3.3. 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 (exp : 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.

II.4.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.4.1. 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.4.2. 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.4.3. 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.4.3.1. 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.4.3.2. 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 n° 07**).

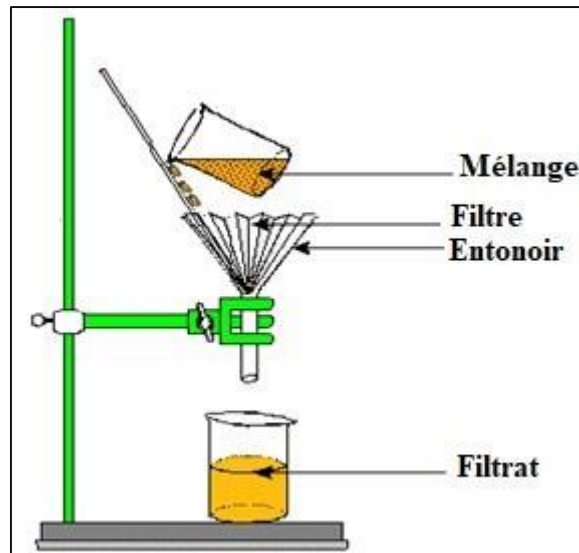


Figure n° 07 : Montage de filtration par gravité

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.4.4. Filtration sous vide

La vitesse de filtration est augmentée par la création d'une dépression en aval du matériau filtrant (**figure n° 08**). C'est le mode de filtration utilisé d'une manière courante pour les verres frittés Cette qualité de verre finement poreux est bien connue des chimistes. Il est obtenu par frittage de particules de verre calibrées à la même taille. .

Le frittage est un procédé de fabrication qui consiste à chauffer et comprimer ces particules de verre avec un liant comme le glycérol qui se détruit sous l'effet de la chaleur, les grains se soudent entre eux, ce qui forme la cohésion de la pièce avec des interstices de taille égale.

Il existe différentes porosités de fritté référencés par un numéro qui correspond à une dimension de pores en micron (m) 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.

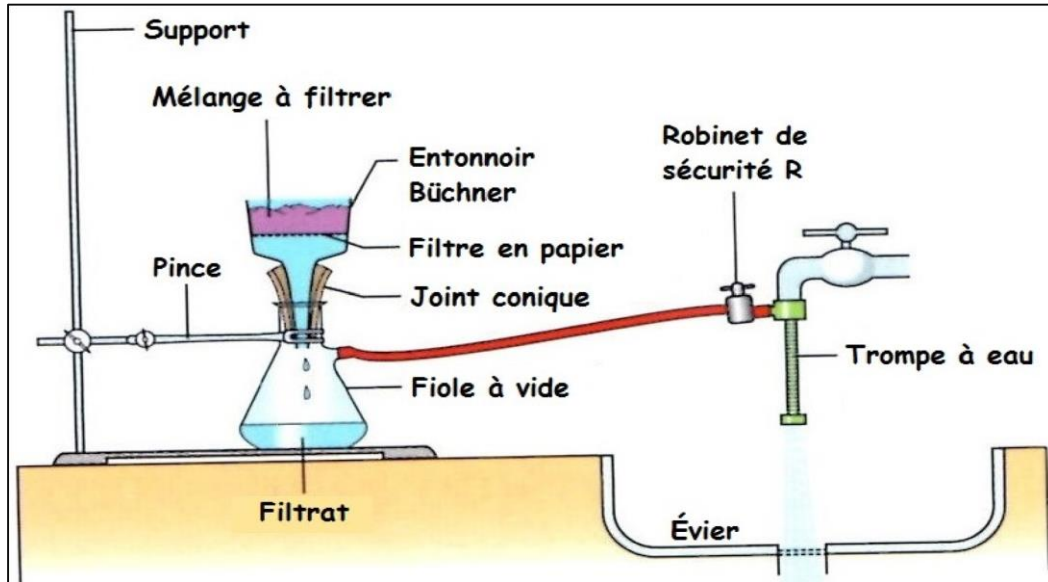


Figure n° 08 : Schéma d'une filtration sous vide

- **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.4.5. 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 (**figure n° 09**). 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 n° 09 : Filtration sous pression

II.4.6. 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.4.7. 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).

II.5. Les techniques chromatographiques

II.5.1. Définition

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.

C'est une méthode de séparation, non destructrice en son principe, basée sur le fait que le coefficient de partage d'un soluté entre deux phases dépende de la nature du soluté, et donc, si l'une des phases est mobile par rapport à l'autre, les solutés mettront un temps plus ou moins long à parcourir le chemin imparti à cette phase mobile.

II.5.2. Buts de la chromatographie

On peut distinguer deux objectifs principaux :

II.5.2.1. Objectif analytique

Il s'agit d'identifier des solutés qualitativement et/ou quantitativement, l'opération se faisant par le seul processus chromatographique, auquel peuvent être associées, en passage direct, d'autres techniques analytiques chimiques ou physico-chimiques destinées à faciliter l'analyse qualitative (on qualifie cela de couplage). Les quantités analysées doivent être extrêmement minimales afin de ne pas s'écarter des règles d'idéalité de la thermodynamique (le coefficient de partage n'est autre qu'une constante d'équilibre thermodynamique, où les activités intervenant ne sont égales aux concentrations que si elles sont très faibles. Les systèmes de détection devront donc être très sensibles.

II.5.2.1. Objectif préparatif

Les concentrations des solutés sont ici importantes et on travaille hors des règles d'idéalité thermodynamiques. Les quantités produites demeurent cependant faibles (de l'ordre du kg / jour) et le procédé ne sera utilisé que pour préparer des substances rares, sensibles à la chaleur (protéines, etc...).

II.5.2.2. Principe de la chromatographie

La chromatographie est une méthode de séparation des constituants d'un mélange même très complexe. Il existe trois principaux types de chromatographie :

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

Les deux premières méthodes peuvent être assez largement décrites par des théories communes. Dans les deux cas, un fluide appelé phase mobile parcourt un tube appelé colonne. Cette colonne peut contenir des "granulés" poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire). Dans les deux cas, la colonne est appelée phase stationnaire. A l'instant initial, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne.

Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange, appelés généralement les solutés, sont inégalement retenus lors de la traversée de la colonne.

De ce phénomène appelé rétention il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés.

Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. En effet, il dirige sur un enregistreur un signal constant appelé ligne de base en présence du fluide porteur seul ; au passage de chaque soluté séparé il conduit dans le temps à l'enregistrement d'un pic.

Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise qualitativement une substance. L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté.

II.5.3. La chromatographie liquide haute performance

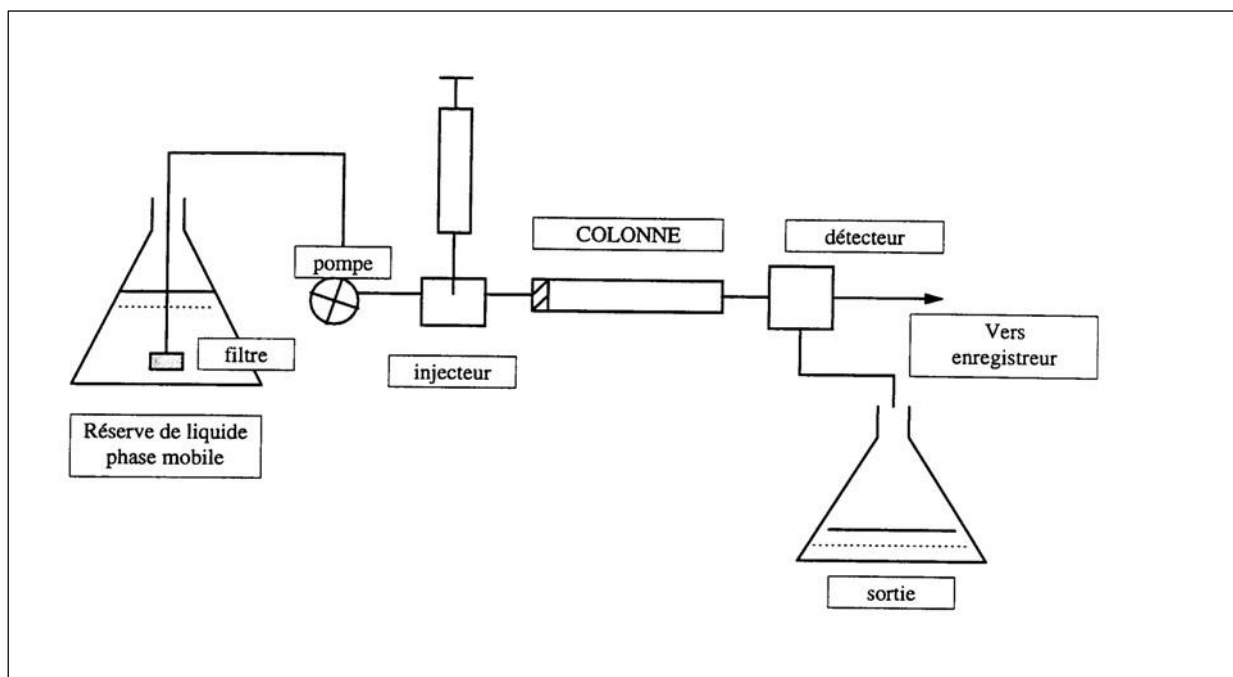


Figure n° 10 : Principe de fonctionnement de l'HPLC

a. La phase normale

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaires qui sortent en tête.

L'inconvénient d'une telle phase, c'est une détérioration rapide au cours du temps du gel de silice, ce qui entraîne un manque de reproductibilité des séparations.

b. La phase inverse

La phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C_8 et C_{18}). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, MeOH, H_2O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier.

Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps, et la qualité de la séparation est donc maintenue constante.

c. La phase mobile

L'interaction plus ou moins forte entre la phase mobile et la phase stationnaire normale ou à polarité inversée se répercute sur les temps de rétention des solutés. La polarité de la phase stationnaire permet de distinguer deux situations de principe :

- Si la phase stationnaire est polaire, on utilisera une phase mobile peu polaire la chromatographie est dite en phase normale ;
- Si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonitrile avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse. En modifiant la polarité de la phase mobile, on agit sur les facteurs de rétention k des composés.

Les silices greffées conduisent en général à une perte importante de polarité. Avec une phase greffée, l'ordre d'élution est opposé à celui auquel on est habitué avec les phases normales. Ainsi avec un éluant polaire, un composé polaire migre plus vite qu'un composé apolaire. Dans ces conditions les hydrocarbures sont fortement retenus. On réalise des gradients d'élution en diminuant au cours de la séparation la polarité de l'éluant (ex : mélange eau /acétonitrile dont la concentration en acétonitrile va en croissant au cours de l'élution).

***Exemple de l'Analyse qualitative des extraits végétaux par la HPLC**

Pour l'identification des polyphénols, on a utilisé une HPLC analytique de type HP 1100, géré par le logiciel CHEMSTATION qui est constituée :

D'un système de dégazage.

D'une pompe avec deux pistons fonctionnant en décalé, délivrant un débit stable et non pulsé et permettant d'avoir une ligne de base parfaitement rectiligne.

D'un injecteur permettant d'injecter avec précision toujours le même volume de liquide (20 μ L) dans la chaîne de la HPLC.

D'une colonne qui se présente sous forme d'un tube en acier inoxydable résistant à des pressions de plus de 400 bars, rempli de résine, de longueur variant de 5 à 25 cm avec un diamètre intérieur compris généralement entre 2 et 5 mm.

D'un détecteur UV visible G1314A qui mesure l'absorbance de la substance à une longueur d'onde donnée.

D'un détecteur de fluorescence FLD G1321A.

On peut, en mélangeant plusieurs solvants, ajuster le pouvoir d'éluion de la phase mobile

II.5.4. Spectrographie de masse

II.5.4.1. Principe de la méthode

Le spectrographe de masse consiste à ioniser par des électrons une molécule A. Celle-ci va donc donner une entité A^+ ayant perdu un électron. A^+ va pouvoir se scinder en plusieurs groupements (chargé + ou non) plus petits, ou bien se réarranger.

On accélère alors ces particules par un champ électrique, puis elles sont déviées par un champ magnétique. On montre que la déviation est proportionnelle à m/q (ici à m/e). Un spectrographe de masse dans lequel on ne modifie aucun paramètre ne va pouvoir être étalonné. Il sera étalonné en masses molaires, puisque e est constant. Le nombre de molécules aura une incidence sur la plaque sensible du détecteur : plus nombreux sont les ions d'un type donné, plus intense sera la tache obtenue. Actuellement, les détecteurs informatisés permettent d'obtenir directement un spectre étalé.

II.5.5. 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.

II.5.5.1. 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 N_2), 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

II.5.5.2. 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.

II.5.5.3. Utilisation de la CPG

- 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.

REFERENCES BIBLIOGRAPHYQUES

AFNOR., Huiles essentielles, (2000).

BRUNETON J., "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales", (2009), 4^e Ed. Lavoisier. 585 P.

COTE G., "Extraction Liquide-Liquide : Présentation Générale, Techniques de l'Ingénieur, Génie des Procédés", (1998), 2:2761-2760.

CROUZET J., "Arômes Alimentaires", (2004), Ed. Techniques d'Ingénieur.

PARIS R. et MOYSE H., "Matière Médicale", Tome I, (1965), Ed. Masson et Cie, Paris.

PARIS R. et MOYSE H., "Matière Médicale". Tome II, (1971), Ed. Masson et Cie, Paris.

PHARMACOPEE EUROPEENNE., "Conseil d'Europe", (2010), 1^e Ed, Strasbourg.

SAVIDA N., "La chromatographie" (1963), Ed, Dunod.

SKOOG. Chimie analytique **2012**, Edition De Boeck, 1200

