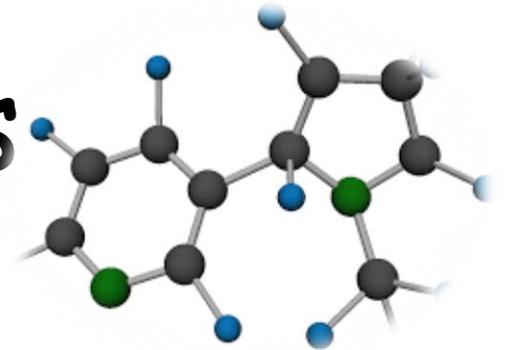


Université Badji-Mokhtar. ANNABA

جامعة باجي مختار - عنابة



Méthodes chromatographiques de séparation



Dr. M. Boukachabia

Année universitaire 2019 / 2020

SOMMAIRE

- ❖ **Chapitre I** : Généralités sur Les méthodes de séparation classiques.
- ❖ **Chapitre II** : La chromatographie: notions de base.
- ❖ **Chapitre III** : La chromatographie sur CM, sur papier et sur colonne conventionnelle.
- ❖ **Chapitre IV** : La chromatographie en phase gazeuse (CPG)
- ❖ **Chapitre V** : La chromatographie liquide à haute performance (CLHP).
- ❖ **Chapitre VI** : L'électrophorèse
- ❖ **Chapitre VII** : Les méthodes chromatographiques de couplage



I-1-Introduction.

I-2-Filtration.

I-3-Centrifugation.

I-4-Distillation.

I-5-Extraction.

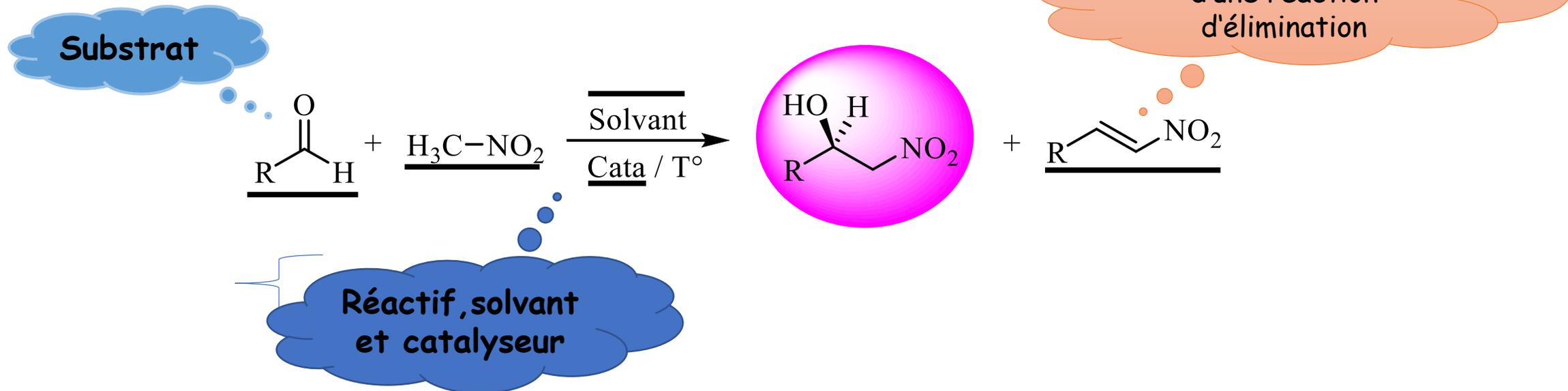
I-6-Cristallisation.

I-7-Constantes physiques des corps organiques.

I-1- Introduction:

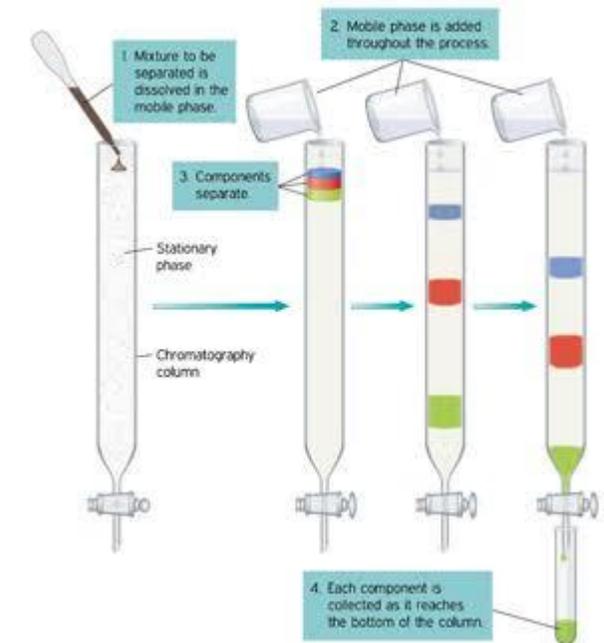
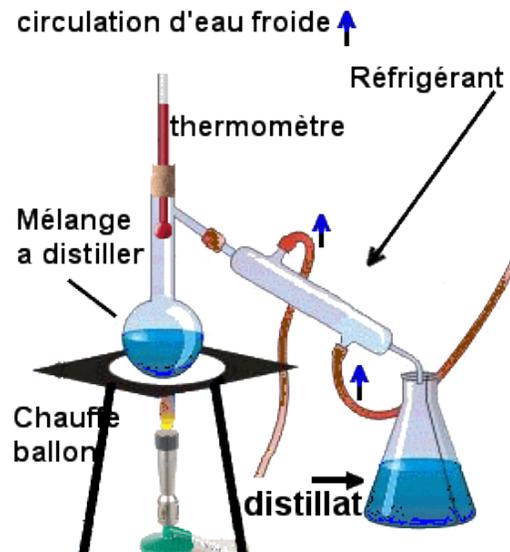
- À la fin d'une réaction chimique, le produit obtenu doit être à l'état pur en l'isolant du mélange réactionnel par une séquence d'opérations appelées collectivement « **work-up** »; En plus du produit requis, la réaction peut contenir, par exemple, un solvant qui a été utilisé comme milieu de réaction, un excès de réactifs ou encore des produits de réaction indésirables.

➤ Exemple: Réaction de nitroaldolisation de Henry



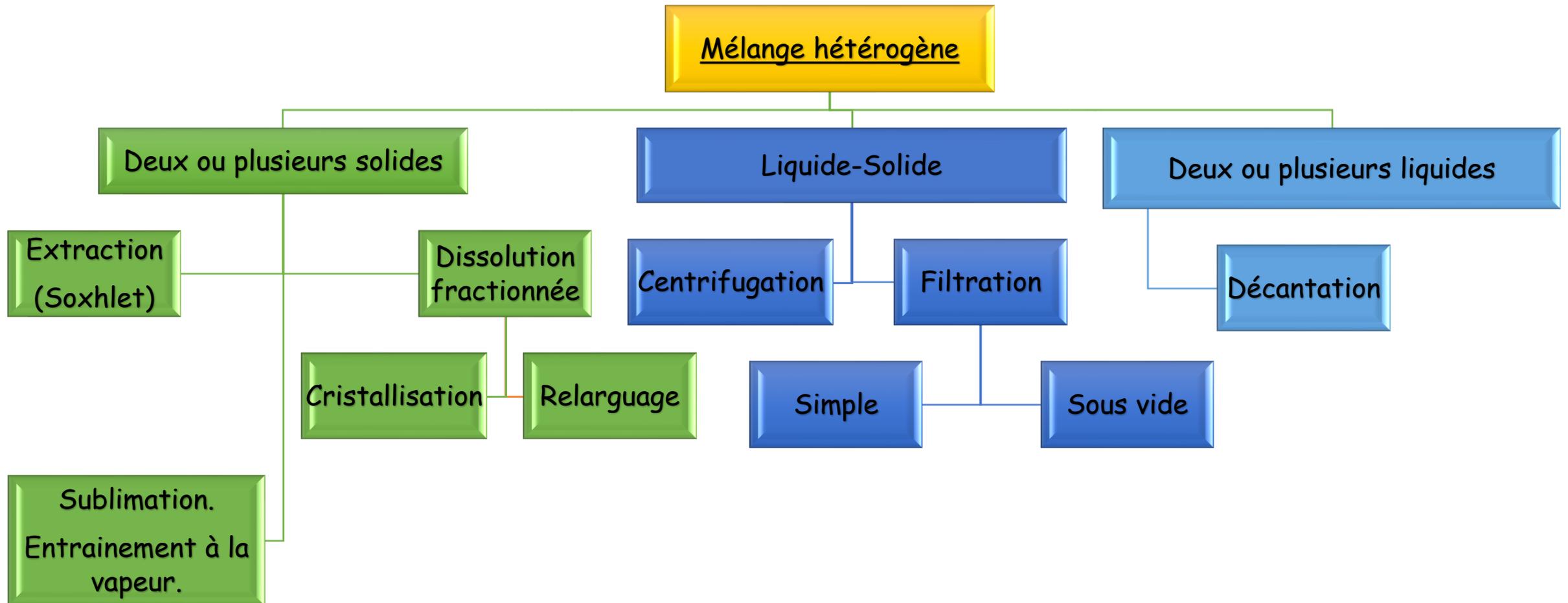
I-1- Introduction:

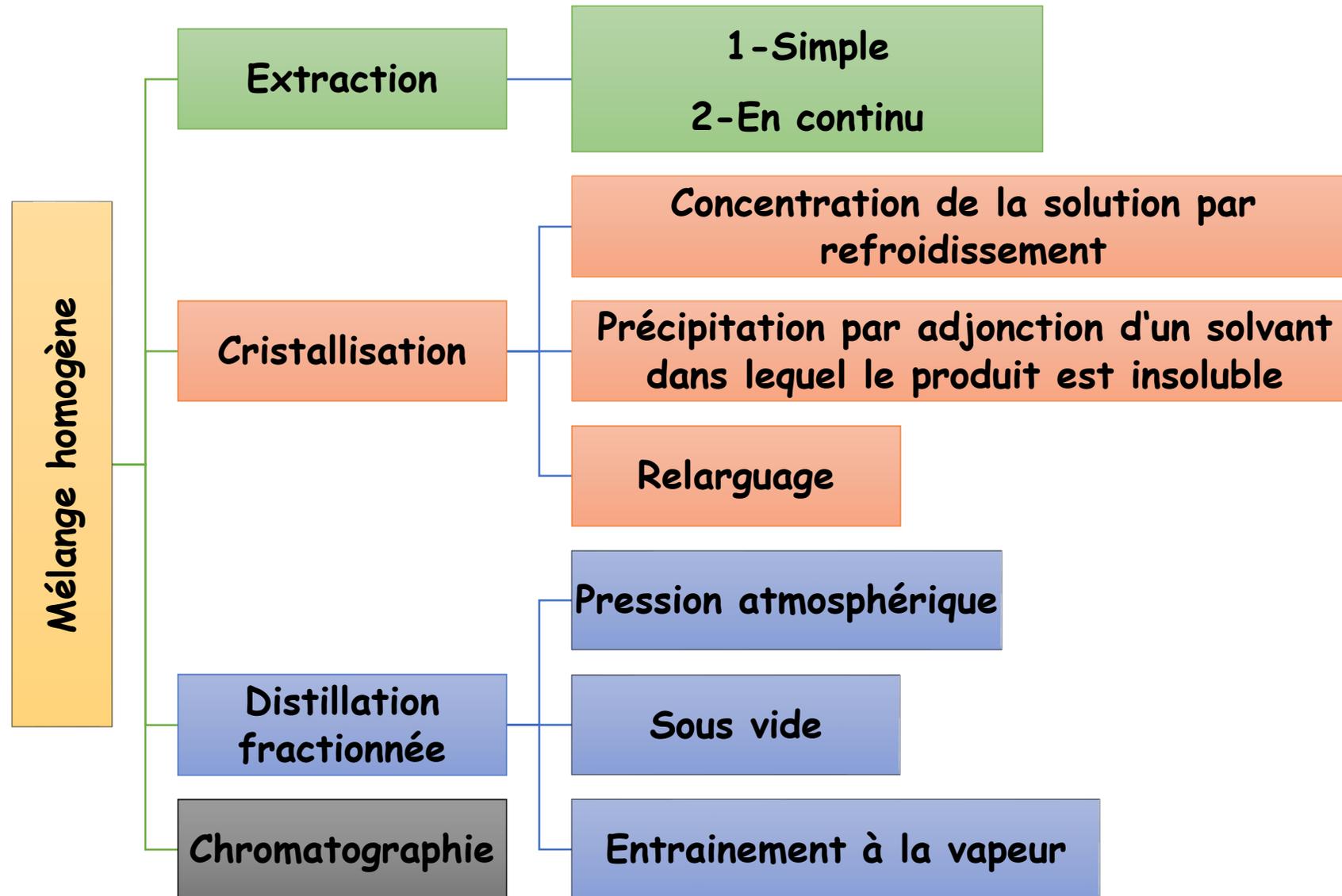
- Les techniques et les méthodes de purification sont très importantes car pour déterminer la nature, la composition, voire la structure d'une molécule, il faut que cette dernière soit à l'état pur.
- De nombreuses méthodes servent à purifier les substances organiques, les anciennes techniques telles que: **la distillation**, **la cristallisation**, **l'extraction...** restent fiables mais les nouvelles techniques telles que la **chromatographie** a connu un développement considérable; la sensibilité et la précision de cette méthode permet une large application en analyse qualitative, quantitative, purification et identification.



I-1- Introduction:

- Les premières opérations de purification sont simples. Elles permettent de séparer en fractions homogènes, solides ou liquides des produits qui sont encore des mélanges. Nous avons réuni les principales méthodes de séparation dans les histogrammes suivants selon la nature du mélange réactionnel:



I-1- Introduction:

I-1- Introduction:

➤ Le choix des opérations de purification est très important, l'utilisations des procédures irréfléchies peut entraîner la perte du produit essentiel par décomposition lors d'une tentative d'isolement.

➤ Exemple: Réaction de nitroaldolisation de Henry

$$\text{R}-\text{CHO} + \text{H}_3\text{C}-\text{NO}_2 \xrightarrow[\text{Cata} / \text{T}^\circ]{\text{Solvant}} \text{R}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{NO}_2 + \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{NO}_2$$

Filtration

Distillation

Elimination du solvant

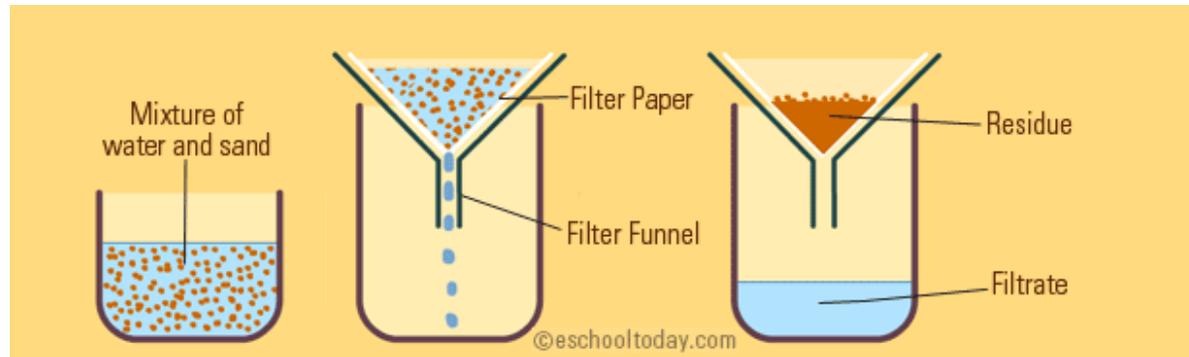
Disparition du produit principal???

La température élevée de distillation peut favoriser la formation du produit secondaire selon un mécanisme d'élimination d'une molécule d'eau.

$$\text{R}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{NO}_2 \xrightarrow{\text{H}_2\text{O}^+} \text{R}-\text{CH}(\text{OH}_2^+)-\text{CH}_2-\text{NO}_2 \rightarrow \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O}$$

I-2- Filtration:

- La **filtration** est une méthode de purification d'un mélange possédant deux phases, une est liquide et l'autre est solide par le biais d'un milieu poreux. Le liquide ayant subi la filtration est nommé **filtrat** ou **perméat**, tandis que la fraction retenue par le filtre est nommé **résidu**, **rétentat**.



- Pour les liquides faiblement alcalins ou acides, on utilise des filtres en cellulose. Pour les liquides de forte alcalinité ou acidité, on a recours à des substances minérales: coton de verre, porcelaine poreuse, verre fritté.....

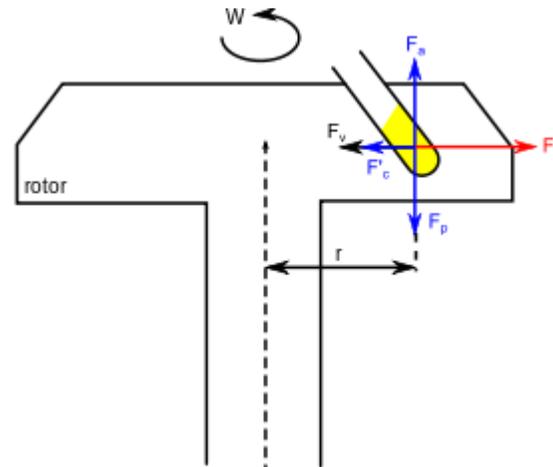


- Lorsque l'on veut séparer, à chaud, une solution contenant des impuretés solides, on utilise, afin d'éviter une recristallisation dans le filtre, un entonnoir à filtration chaude.

I-3- Centrifugation:

- La **centrifugation** est une technique de séparation mécanique, consiste à appliquer une force centrifuge sur un mélange de deux à trois phases entraînées dans un mouvement de rotation. L'appareil utilisé est une machine tournante à grande vitesse appelée **centrifugeuse**.

un émulsifiant
avant
séparation

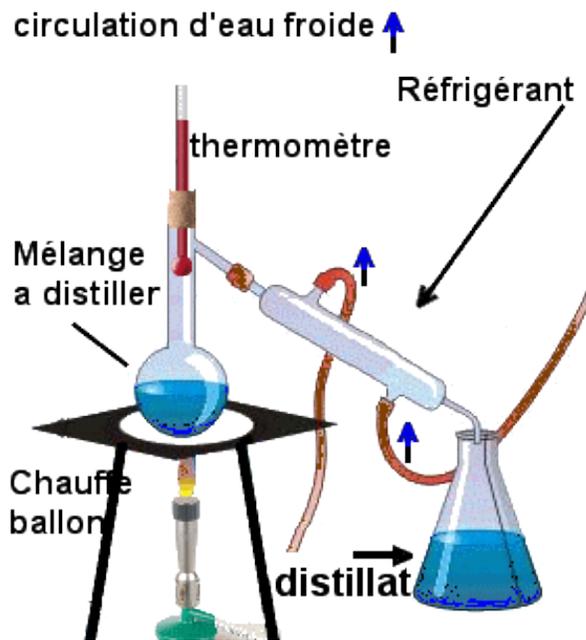


Deux phases
après
séparation

- En pratique, on est parfois gêné par une émulsion persistante. Cette émulsion peut être due à des faibles différences de densité des deux ou plusieurs phases; par exemple : Eau / Aniline : $d=1/d=1,02$; on peut alors saturer l'eau en chlorure de sodium, ce qui provoque l'augmentation de la densité de l'eau pour avoir une bonne séparation.

I-4- Distillation:

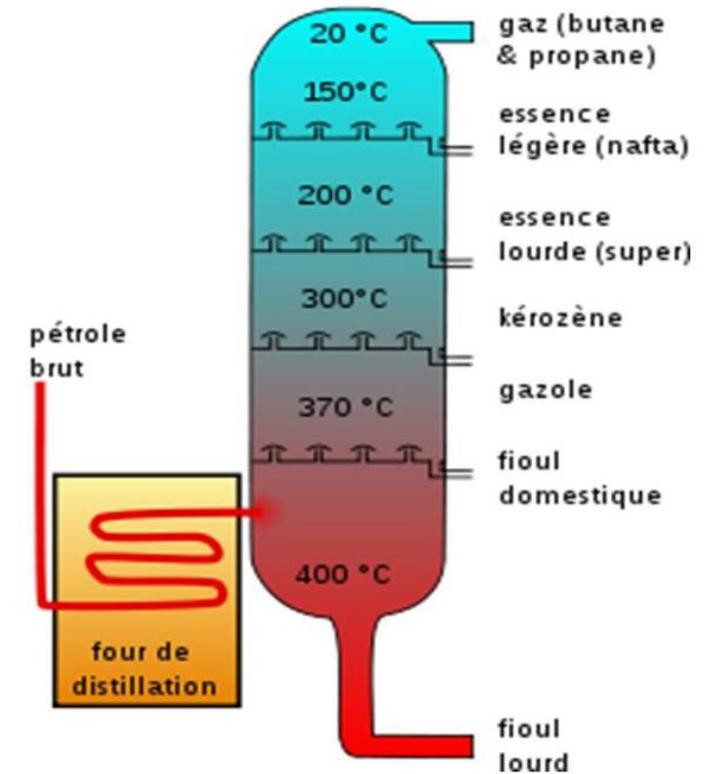
- La **Distillation** est une technique de séparation basés sur la **différence des points d'ébullition** de deux ou plusieurs corps simples. Le mélange liquide est mis à bouillir dans un récipient surmonté d'un réfrigérant. La composition d'une vapeur en équilibre avec le mélange bouillant est différente de celle de ce mélange a purifier, elle est plus riche en produits volatils.



Montage classique de distillation



Rotavapeur



Montage de distillation fractionnée du pétrole

I-4- Distillation:

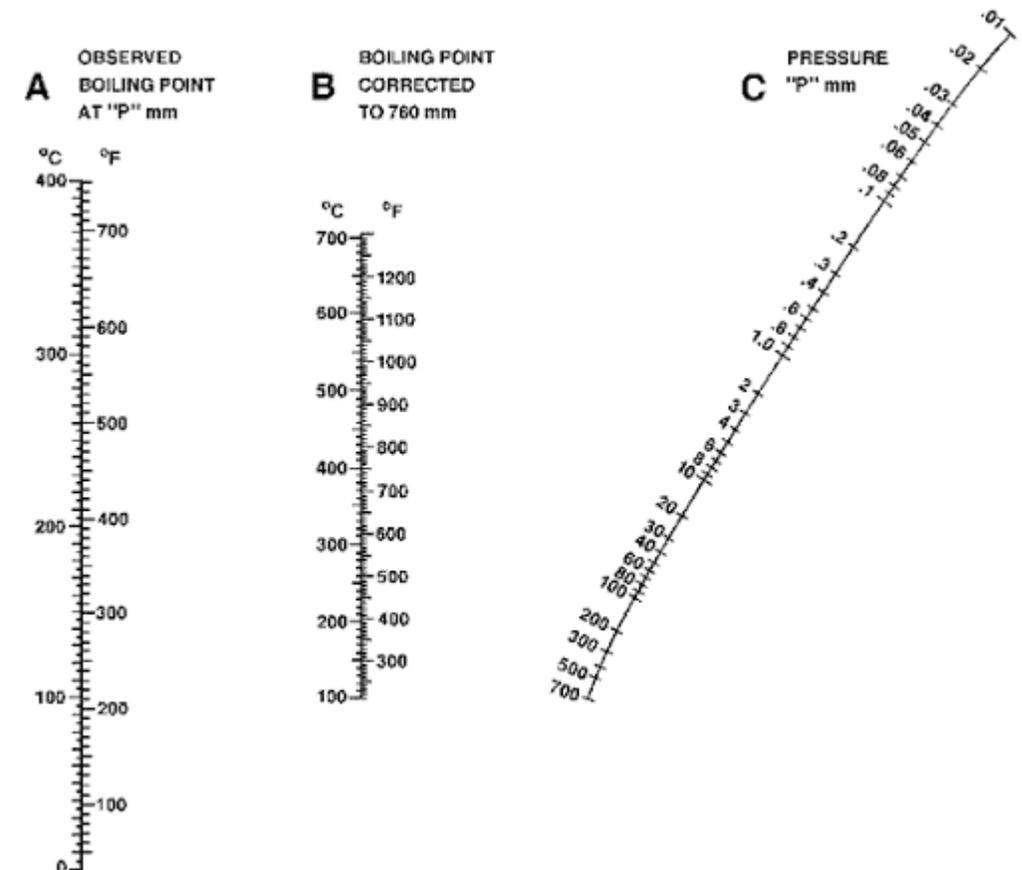
- Si les points d'ébullition sont élevés, on risque la décomposition thermique du produit; il est nécessaire de distiller le mélange réactionnel sous pression réduite en utilisant:
- **Une trompe à vide:** la pression passe de 760 mmHg à 15 mmHg selon la température ambiante



- **Une pompe à palette:** peut atteindre des vides de l'ordre de 0,01 mmHg, le point d'ébullition d'un liquide est alors abaissé de 200°C à 300°C.



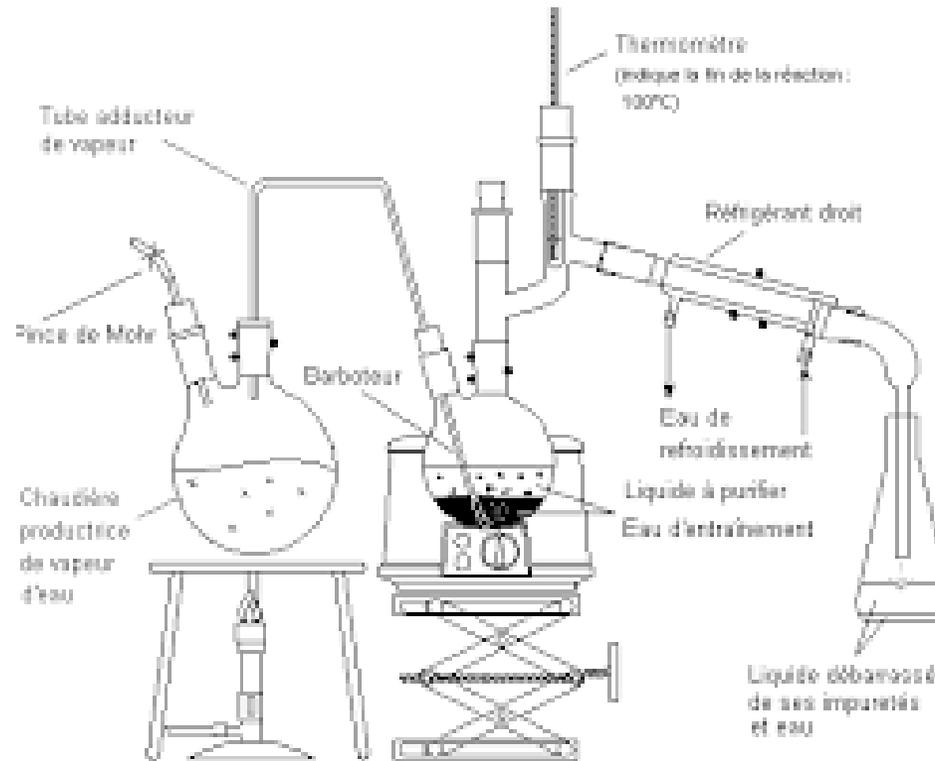
Graphique de corrélation température/pression



I-4- Distillation:

❖ Distillation azéotrope (ou entrainement à la vapeur):

- On fait passer dans une solution ou suspension aqueuse du mélange à séparer, porté à 100°C un courant de vapeur d'eau :



- L'azéotrope formé distille en tête à une température inférieure à 100°C , ceci est valable pour les composés dont le point d'ébullition est peu différent de celui de l'eau.

I-5- Extraction:

➤ L'**extraction** consiste à traiter un mélange homogène ou hétérogène de liquides ou de solides par un solvant pur dans le but d'en extraire un constituant solide ou liquide. Quand le mélange est simplement mis en contact avec un solvant approprié, on parle d'**extraction discontinue**. Quand le mélange de composés est traité par un solvant approprié, continuellement purifié par distillation, on parle d'**extraction continue**.

❖ Extraction Liquide-Liquide:

➤ Pour réaliser l'extraction liquide-liquide, le **solvant** et le **mélange liquide** doivent être **non miscibles**, et le produit à extraire doit être **beaucoup plus soluble dans le solvant d'extraction** que dans le mélange liquide.

✓ L'**extraction liquide-liquide discontinue** s'effectue par l'agitation vigoureuse du solvant et de la solution à extraire dans une **ampoule à décanter**

✓ Pour l'**extraction continue**, la solution à extraire est alimentée par un solvant pur recyclé en continu par distillation.



I-5- Extraction:

❖ Extraction Solide-Liquide:

- L'extraction solide-liquide consiste à faire passer une substance d'un solide vers un solvant dans lequel elle est soluble et dont elle sera facilement isolable. Le processus nécessite un long contact du solvant avec le solide préalablement broyé avant extraction. .
- Pour que la durée de contact entre le solvant et l'échantillon soit assez longue, on utilise l'extracteur de Soxhlet.



I-6-Cristallisation:

➤ La cristallisation est une technique de purification très utilisée en chimie organique; le but principal de cette opération est la purification et l'isolement d'un produit sous forme solide voire cristal. On distingue plusieurs approches:

1. cristallisation à partir d'une phase vapeur suivie par une **condensation solide**



2. cristallisation par refroidissement : l'abaissement de la température de la solution provoque la diminution de la **solubilité** du produit en solution ce qui induit sa cristallisation.

3. cristallisation par **relargage**: l'addition d'un contre-solvant **miscible** avec le solvant provoque le relargage du produit en solution ce qui induit sa cristallisation. Idéalement, le contre-solvant solubilise les impuretés.

I-7-Constantes physique des corps organiques:

- Tout corps organique possède un ensemble de propriétés physiques et chimiques qui le différencie des autres. Les principales propriétés physiques qui caractérisent un composé sont:
 - ✓ Le point de fusion.
 - ✓ Le point d'ébullition.
 - ✓ Comportement sous l'effet de la lumière ou d'autres radiation (Adsorption, réfraction, diffraction et le pouvoir rotatoire)

□ Remarques:

- On peut déterminer les propriétés physiques et chimiques d'un composés que si celui-ci est **homogène**
- Un composé est considéré pur, si les propriétés physiques et chimiques ne varient pas lorsqu'il est soumis à des nouvelles opérations de purification.

I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-a- Solubilité de la substance dans différents solvants:

- **Les substances polaires sont plus solubles dans les solvants polaires** que les composés non polaires tels que les hydrocarbures. Les composés organiques ont des parties polaires et des parties non polaires. Leur solubilité dans les différents types de solvants dépend de l'influence relative des parties polaires et non polaires des molécules.
- Pour les composés à une seule fonction tel que les alcools, acides, esters, aldéhydes, cétones, amide et amines, on observe une solubilité faible dans l'eau si la molécule possède plus de quatre carbones; alors que la solubilité des ces mêmes composés est plus grande dans les solvant organiques.
- Les substances ayant au moins deux groupes polaires sont moins solubles dans les solvants organiques et plus solubles dans l'eau tel que: acide succinique, sucres.
- Les sels sont en général solubles dans l'eau mais insolubles dans les solvants organiques, ce qui est l'inverse pour les hydrocarbures.

I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-b- Les points de fusion et d'ébullition:

- Le **point de fusion** d'un corps organique représente la température, à une pression donnée, à laquelle ce composé passe de **l'état solide** à **l'état liquide**.
- Il existe différents appareils permettant de mesurer et d'enregistrer automatiquement les températures de fusion des échantillons cristallins contenus dans des tubes capillaires
- un composé organique cristallin pur possède, en général, un point de fusion bien défini; c'est-à-dire que l'écart entre le début et la fin de fusion ne dépasse pas 0,5 °C. la présence des petites quantités d'impuretés entraîne habituellement une augmentation remarquable de l'écart des points de fusion et provoque le début de la fusion à une température inférieure au point de fusion de la substance pure. le point de fusion est donc un critère de pureté valable pour un composé organique.



I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-b- Les points de fusion et d'ébullition:

- Le **point d'ébullition** d'un corps organique représente la température, à une pression donnée, à laquelle ce composé passe de **l'état liquide** à **l'état gazeux**. La température d'ébullition, tout comme la température de fusion dépend de la pression: lorsque la pression augmente, la température d'ébullition augment aussi, par exemple: la température d'ébullition de l'eau est 100°C a sous pression de 1,013 bar et de 60°C sous pression de 0,2 bar.
- Ce point peut être mesuré en provoquant l'ébullition du corps pur liquide, par le biais d'un chauffe-ballon et un thermomètre.
- Chaque corps pur possède sa propre température d'ébullition qui le caractérise par conséquent cette dernière doit permettre de l'identifier.

| Composé | Point d'ébullition |
|---------------------------------|--------------------|
| Ether di éthylique | 30° |
| CH ₂ Cl ₂ | 40 |
| Hexane | 60° |
| Ethanol | 78° |
| Eau | 100° |

I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-c- Indice de réfraction:

- Après purification, les liquides ont une température d'ébullition caractéristique mais aussi un indice de réfraction bien précis. C'est un meilleur critère de pureté que la température d'ébullition.
- **L'indice de réfraction** n d'une substance est le quotient entre la vitesse de la lumière dans le vide et sa vitesse dans le composé. Il varie avec la longueur d'onde de la lumière et avec la température. En pratique, l'indice de réfraction se mesure par rapport à l'air sachons que $n_{(\text{vide})} = 0,00027 \times n_{(\text{air})}$
- La source lumineuse utilisée est la raie D du sodium $\lambda = 589,3 \text{ nm}$; on peut aussi utiliser la lumière blanche et convertir la valeur obtenue en une valeur relative à la raie D de sodium, on écrit:

$$n_{D}^{20} \dots\dots \text{température de mesure}$$

$$D \dots\dots \text{rayonnement utilisé}$$



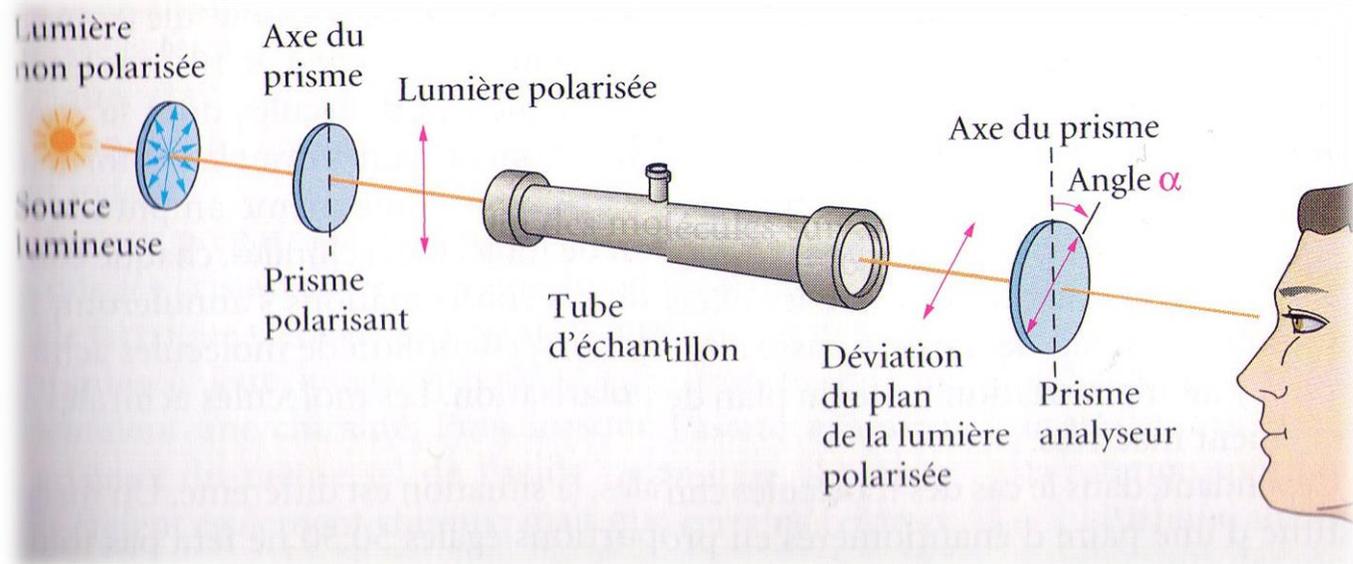
Réfractomètre

- Si la température augmente de 1°C l'indice de réfraction diminue de $4,5 \times 10^{-4}$. la variation d'indice entre deux composés est liée aux modifications de structure.

I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-d- Pouvoir rotatoire:

- Si le composé est optiquement actif, on détermine le pouvoir rotatoire. Un composé optiquement actif fait tourner le plan de vibration de la lumière polarisée, le phénomène s'observe au polarimètre qui sert à déterminer le pouvoir rotatoire des composés optiquement actifs.
- A une température T et à une longueur λ , pour un composé et un solvant donné, la valeur de l'angle est proportionnelle à la quantité de matière rencontrée par la lumière, c'est à dire au produit de la concentration par la longueur l de la cuve (**loi de Biot**)



$$[\alpha]_{\lambda}^T = \alpha / l \times c$$

$[\alpha]_{\lambda}^T$: Pouvoir rotatoire spécifique

l : longueur de la cuve en dm

c : concentration de la substance chirale

I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-e- Masse molaire:

➤ La masse molaire peut être déterminée de différentes manières:

1- Mesure par spectrométrie de masse :

➤ La spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leur identification et leur quantification. Elle est fondée sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation ou dans une chambre de collision.

➤ Les ions moléculaires se fragmentent pour donner des ions fils en suivant des règles de fragmentation connues et caractéristiques des structures des molécules à analyser.

➤ Le graphique représentant l'intensité des ions en fonction de leur rapport m/z est appelé spectre de masse.

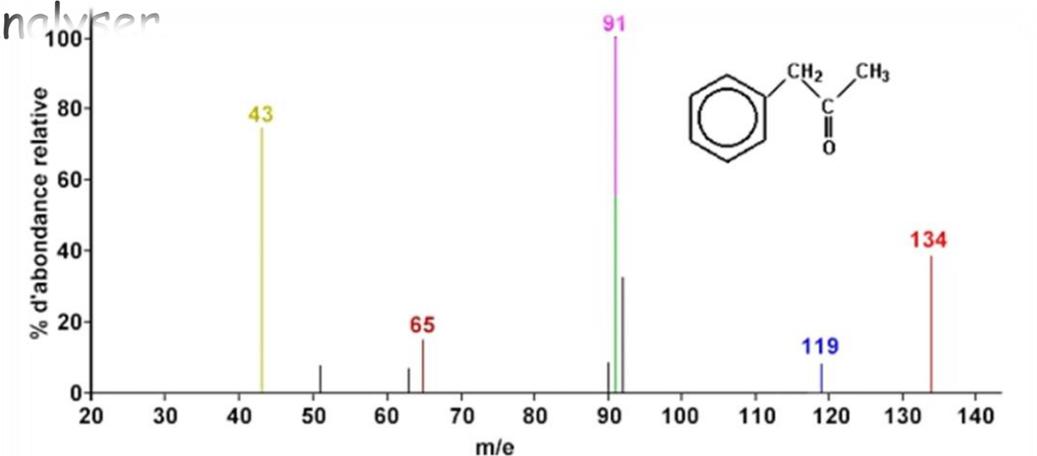


Figure 26. Spectre de masse de la 1-phényl-2-propanone $\text{ArCH}_2\text{COCH}_3$ dont la masse molaire = 134,18 g/mol.

I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-e- Masse molaire:

- La masse molaire peut être déterminée de différentes manières:

2- Mesure de la densité de vapeur:

- Si la substance est volatile, on vaporise une masse m connue et on mesure le volume V de vapeur obtenue, on a ainsi la densité de vapeur $d = m/V$, on applique ensuite la loi d'Avogadro $M = 29d$.

3- Mesure par cryoscopie:

- La **Cryoscopie** est l'étude des corps fondée sur l'observation de la température de congélation de leurs solutions, par exemple une solution aqueuse de glycol congelé à température plus basse que celle de l'eau pure. L'abaissement $\Delta\theta$ du point de congélation ou abaissement cryoscopique est donné par la loi de Raoult dans le cas de solutions peu concentrées: $\Delta\theta = (K \times \text{masse soluté}) / \text{masse molaire du soluté} \times \text{masse solvant}$

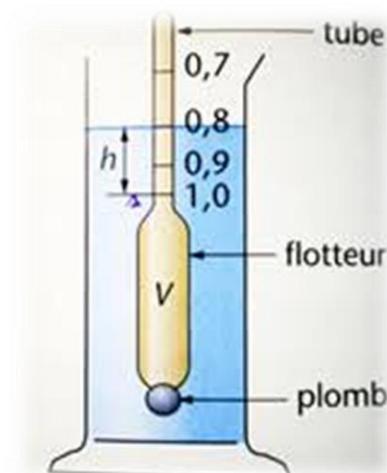
$$\Delta\theta = \frac{K m_i}{M m_s} \Leftrightarrow M = \frac{K \times m_i}{\Delta\theta \times m_s} \quad \text{Avec } K = \text{constante cryoscopique caractéristique du solvant}$$

I-7-Constantes physique des corps organiques:

I-7-f- Odeur, couleur et densité :

- L'**odeur** peut être un indice pour déterminer la nature d'un composé organique mais ne pas trop s'y fier, car le sens de l'odorat varie d'un individu à l'autre. On peut aussi avoir des odeurs analogues pour des composés différents.
- La **couleur** peut être un indice de la catégorie du composé, mais des impuretés très colorées souvent présentes peuvent nous faire aboutir à des conclusion erronées.

- La **densité** dans le cas des liquides se détermine précisément à l'aide des pycnomètre ou densimètres de différents modèles.



- L'étalonnage du pycnomètre se fait par pesée de l'appareil d'abord vide, puis rempli d'un liquide de densité connu, l'eau en général, pour la substance étudiée on opère de la même façon.

Références

