

Chapitre II :

La chromatographie

1. Définition

La chromatographie est une méthode physique d'analyse basée sur la séparation de constituants d'un mélange ; les différents constituants de ce mélange appelés **solutés** sont séparés et entraînés par un fluide (un liquide ou gaz) que l'on appelle **phase mobile** ; ils interagissent ou au contraire n'interagissent pas avec une phase fixe que l'on appelle **phase stationnaire** qui exerce sur eux un effet retardateur. L'origine du mot chromatographie vient peut-être de la séparation de composés colorés puisque chroma (Χρωμα) en grec, signifie couleur et graphein signifie écrire.

2. Classification des techniques chromatographiques

Les méthodes chromatographiques se classent en trois façons :

2.1. Classification selon la nature physique des phases

- Selon la nature de la phase mobile on distingue:
 - la chromatographie en phase liquide (CPL)
 - la chromatographie en phase gazeuse (CPG)
 - la chromatographie en phase supercritique (CPS)
- Selon la nature de la phase stationnaire on distingue:
 - la chromatographie liquide/solide (CLS)
 - la chromatographie liquide/liquide (CLL)
 - la chromatographie gaz/solide (CGS)
 - la chromatographie gaz/liquide (CGL)

2.2. Classification selon le mécanisme de rétention

Cette classification repose sur la nature de la phase stationnaire et son interaction avec les molécules à séparer. On distingue ainsi: la chromatographie d'adsorption, de partage, d'échange d'ions, d'exclusion et la chromatographie d'affinité.

2.3. Classification selon la technique mise en jeu

Selon la technologie mise en jeu on distingue:

- la chromatographie sur colonne
- la chromatographie de surface (chromatographie sur papier ou chromatographie sur couche mince).

2. Terminologie et grandeurs de rétention

Voici quelques concepts

3.1. Chromatogramme

Un chromatogramme est un diagramme montrant l'évolution du signal du détecteur (par rapport à la concentration en soluté) en fonction du temps d'élution (plus rarement du volume d'élution). Ce graphique est utilisé à la fois en analyse qualitative et quantitative.

Analyse qualitative : permet l'identification des composés par la position du pic

Analyse quantitative : évaluer la concentration ou la masse d'un composé en utilisant l'aire des pics

3.2. Elution

L'élution est l'entraînement d'un soluté à travers la phase stationnaire par le mouvement de la phase mobile. En chromatographie liquide solide, la phase mobile peut être appelée éluant.

3.3. Le temps mort

Le temps mort (t_m) est le temps mis par un composé non retenu par la phase stationnaire de la colonne, pour parcourir le trajet entre l'entrée et la sortie de la colonne (ou temps mis par la phase mobile pour traverser la colonne).

3.4. Le temps de rétention

Le temps de rétention (t_r) est le temps mis par les molécules d'un composé à analyser (soluté) pour parcourir le trajet entre l'entrée et la sortie de la colonne. Le temps de rétention est caractéristique d'une espèce pour des conditions d'analyse données et peuvent servir à l'analyse qualitative. La surface et la hauteur d'un pic est fonction de la quantité du constituant. Le temps de rétention est indépendant de la quantité d'échantillon injectée. Il est fonction de la nature et la vitesse de la phase mobile (Fig.1).

3.5. Le temps de rétention réduit

Le temps de rétention réduit (t_r') représente le temps passé par le soluté dans la phase stationnaire.

$$t_r' = t_r - t_m$$

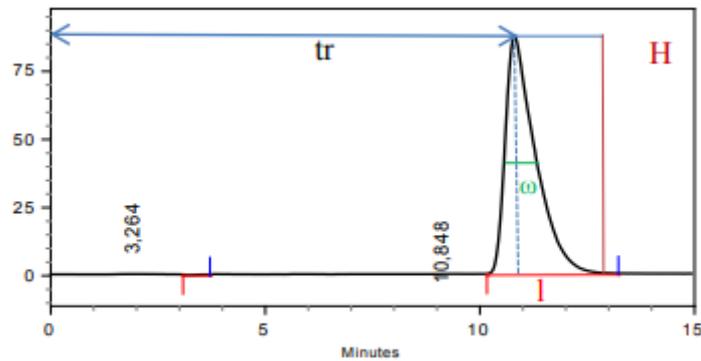


Fig.1: Chromatogramme d'un constituant

3.6. Le volume de rétention

Connaissant le débit D de la phase mobile, supposé maintenu constant, on définit le volume de rétention (V_r)

$$V_r = t_r \times D$$

$$V_r = t_r \times u \cdot s \cdot \epsilon$$

u : vitesse linéaire moyenne de la phase mobile

s : sélection droite de la colonne

ϵ : porosité de la phase stationnaire (= 0,75 pour la silice poreuse)

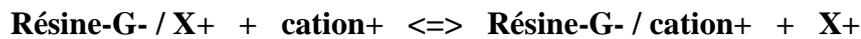
Exemple de chromatographie

La chromatographie échangeuse d'ion (Chromatographie Ionique)

Principe :

Les échangeurs d'ions sont des macromolécules insolubles portant des groupements ionisables, qui ont la propriété d'échanger de façon réversible certains de leurs ions, au contact d'autres ions provenant d'une solution.

Résine cationique : qui échange réversiblement des cations. Une résine cationique est chargée négativement.



Résine échangeuse de cations (cationique) :

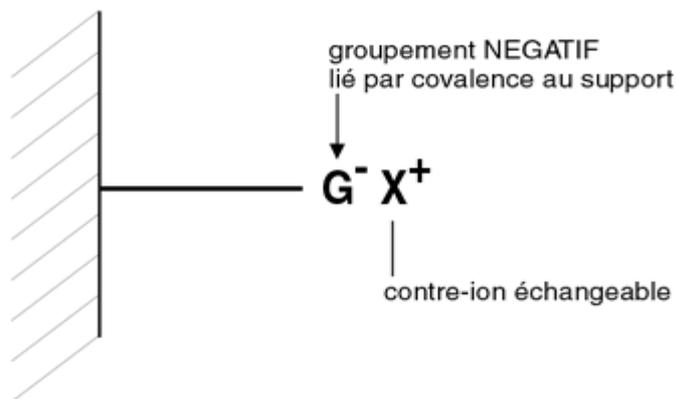
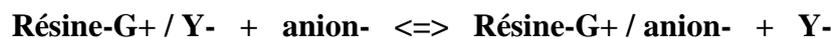
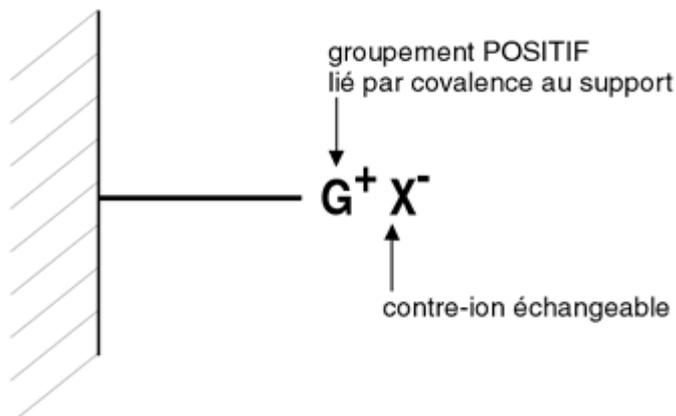


Figure 1 : Résine échangeuse de cations (résine cationique).

Résine anionique : qui échange réversiblement des anions. Une résine anionique est chargée positivement.



Résine échangeuse d'anions (anionique) :



Propriétés des échangeurs d'ions

Le support peut être minéral, mais il est le plus souvent organique (résine de copolymérisation, polyosides : dextrans ou celluloses - voir au verso). Les groupements fonctionnels chargés des résines sont fixés par covalence sur le support.

La chromatographie par échange d'ions se pratique le plus souvent sur colonne, mais la méthode peut être transposée sur couche mince.

Les groupements fonctionnels des résines cationiques (résines classées d'après leurs aptitudes à l'ionisation) :

1. Résines cationiques fortes :

sulfoniques (très fortement ionisées, quel que soit le pH) :

- **Résine sous forme acide** (Résine-SO₃⁻ / H⁺) (contre-ion : H⁺)
- **Résine sous forme sodique** (Résine-SO₃⁻ / Na⁺) (contre-ion : Na⁺)

2. Résines cationiques intermédiaire :

- **à groupement phospho** (Résine-H₂PO₄⁻ / H⁺)(Résine-H₂PO₄⁻ / Na⁺)

3. Résines cationiques faibles :

- **carboxyliques (non ionisées en milieu fortement acide)** (Résine-COO⁻ / H⁺)
(Résine-COO⁻ / Na⁺)
- **à groupement carboxyméthyl** (Résine-CH₂-COO⁻ / H⁺ Résine-CH₂-COO⁻ / Na⁺)

4. Résines cationiques très faibles

- **phénoliques (uniquement ionisées en milieu alcalin)** (Résine-O⁻ / H⁺)
(Résine-O⁻ / Na⁺)

5. Les Groupements fonctionnels des résines anioniques :

- **Résines anioniques fortes (résines à groupements aminés quaternaires) (résines à groupements aminés tertiaires)**

6. Résines anioniques faibles :

7. Résines à groupements aminés secondaires et primaires.