Chromatographie

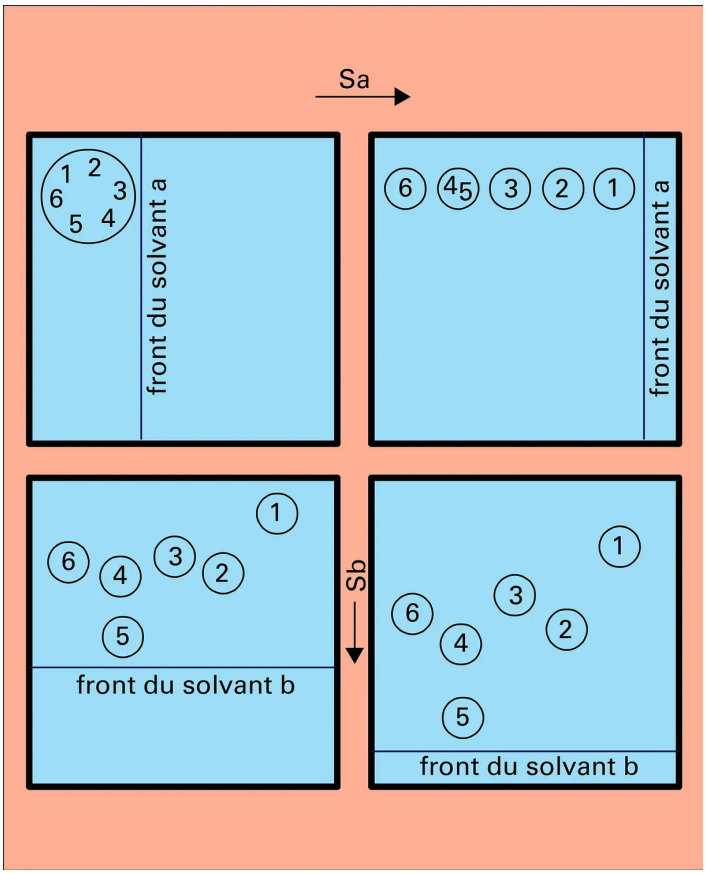
But : La séparation des composants chimiques dans un mélange par la migration sur la phase mobile (liquide ou gaz) et la phase stationnaire (papier ou gélatine). Il existe deux types de chromatographies : **analytique** - identification des composants dans un mélange, et **préparatoire** - purification des constituants. [1]

Principe : La migration des composants se fait selon leur affinité à la phase. La vitesse de migration caractéristique à chaque composant permet d'effectuer la séparation. L'échantillon avec des composants est dissous par une phase mobile et est entraîné à travers la phase stationnaire. Il existe plusieurs interactions entre les composants du mélange et la phase.

Chromatographie selon le type d'interaction :

Chromatographie d'adsorption - chromatographie avec une phase stationnaire solide avec des propriétés absorbantes et une phase mobile liquide. La séparation s'effectue selon la force d'absorption de la phase solide et la force d'élution de la phase mobile liquide.

Figure 1 : Principe de la chromatographie à deux dimensions sur papier

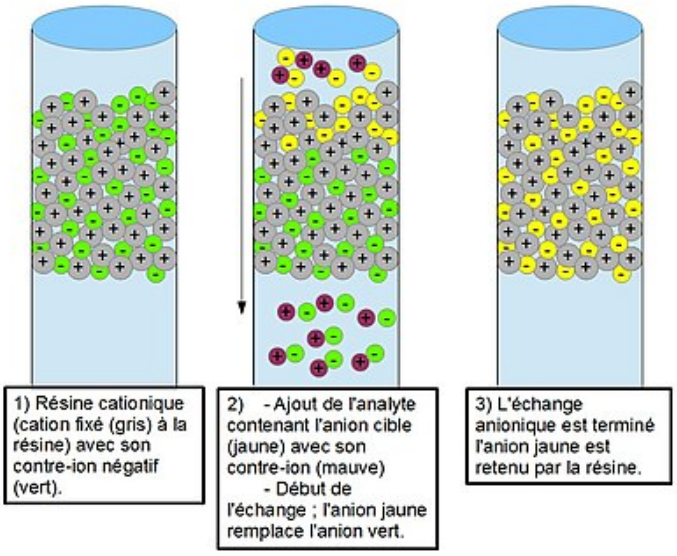


https://www.universalis-edu.com/medias/media/chromatographie-sur-papier-v050761

Chromatographie de partage - séparation dans deux phases liquides non miscibles.

Chromatographie à échange d'ions - séparation selon les groupes chargés. La phase stationnaire est une matrice immobile avec des charges opposées à celles de l'échantillon. Les groupes ionisés de l'échantillon sont retenus sur la phase stationnaire suite à leur interaction avec les charges opposées. On utilise les contre-ions pour la phase stationnaire et mobile afin d'équilibrer des charges. Cette interaction résulte d'une mise en jeu de loi de Coulomb.

Figure 2 : Illustration de la chromatographie échangeuse d'ions : schéma de l'échange anionique

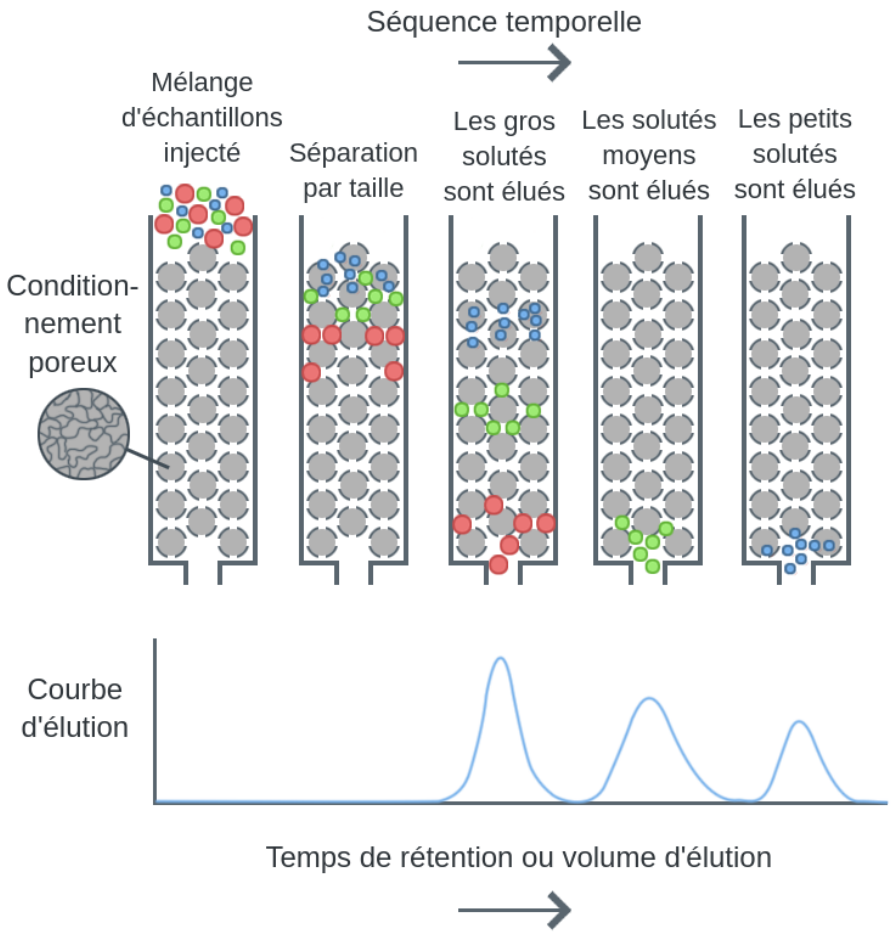


https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/7/7b/Sch%C3%A9ma_de_l%27%C3%A9change_anionique.jpg/500px-Sch%C3%A9ma_de_l%27%C3%A9change_anionique.jpg

Chromatographie d'exclusion stérique - chromatographie en phase liquide permet de séparer les composants en fonction de leur taille. La phase stationnaire est normalement un gel composé des billes poreuses. Selon la taille des composants ceux-ci seront inclus ou exclus des billes. Souvent utilisée pour l'étude des polymères. Il existe 2 types : chromatographie sur gel perméable et filtration sur gel.

> Attention : ce type de séparation ne se base pas sur l'affinité mais sur la taille des molécules

Figure 3 : Illustration de la chromatographie d'exclusion stérique avec un exemple de chromatogramme



https://labster-image-manager.s3.amazonaws.com/f12e5471-1697-45ff-b14e-3c030481129e/PAK_SECdiagram.fr_FR.png

Chromatographie selon le type de phase :

☑ **Chromatographie en couche mince (CCM/TLC)**[2]

1. Le mélange à analyser est déposé sur la plaque chromatographique (exemple : plaque d'aluminium recouverte de gel de silice ou d'un papier filtre)
2. La plaque est mise en contact de l'éluant (c'est un solvant, exemple : dichlorométhane)
3. L'éluant migre de bas en haut par capillarité
4. Les composants du mélange déposés migrent vers le haut suite à la migration de l'éluant
5. Chaque composant migre différemment selon sa taille, il s'agit de la migration différentielle
6. Ensuite, on effectue l'analyse comparative

> N'oubliez pas de mettre les témoins sur la ligne de dépôt

Il existe de nombreux révélateurs (exemple : la vanilline)

Liste des révélateurs selon les composés à détecter

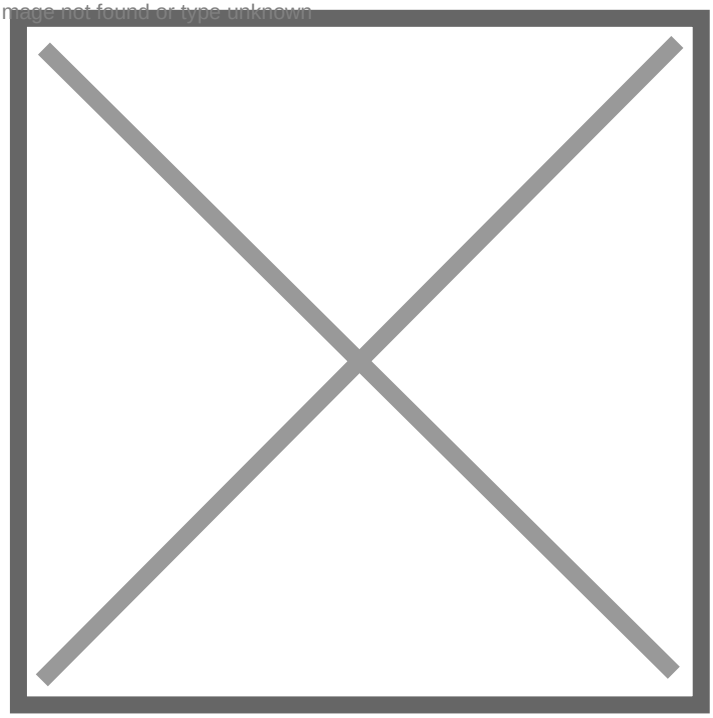
La vanilline est un révélateur courant car il se lie à de nombreuses fonctions chimique.
On peut révéler la migration **avec des UV** avant de faire une révélation chimique.

> N'oubliez pas de fixer des rideaux et de porter des lunettes de protection lors de l'utilisation des UV

La visualisation au UV est rapide et non destructive mais tous les produits ne révèlent pas avec la même intensité aux UV.

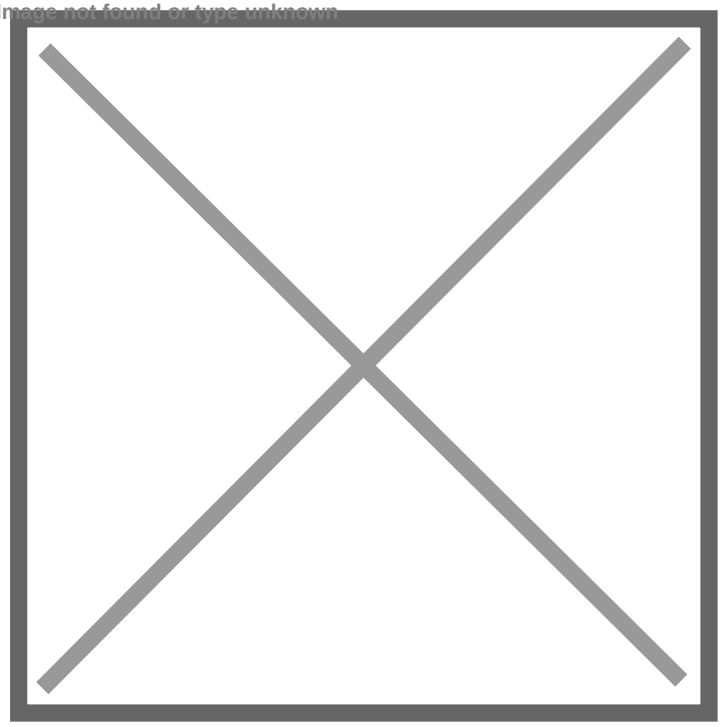
Figure 4 : Boite en bois équipée d'une lampe UV

Image not found or type unknown



Voici un exemple de 2 révélations : on teste ici des jus de poivrons (infecté par un champignon B.cinerea, traité à l'eau, traité à la cellulase) dont on sait qu'il contient une ou plusieurs molécules antifongique, comme le capsidiol. Une révélation chimique avec de **la vanilline** (à droite) sert à identifier les molécules présentes dans les jus. Une révélation biologique avec une pulvérisation de spores (à gauche) sert à identifier quels composés à une activité antifongique.

Image not found or type unknown



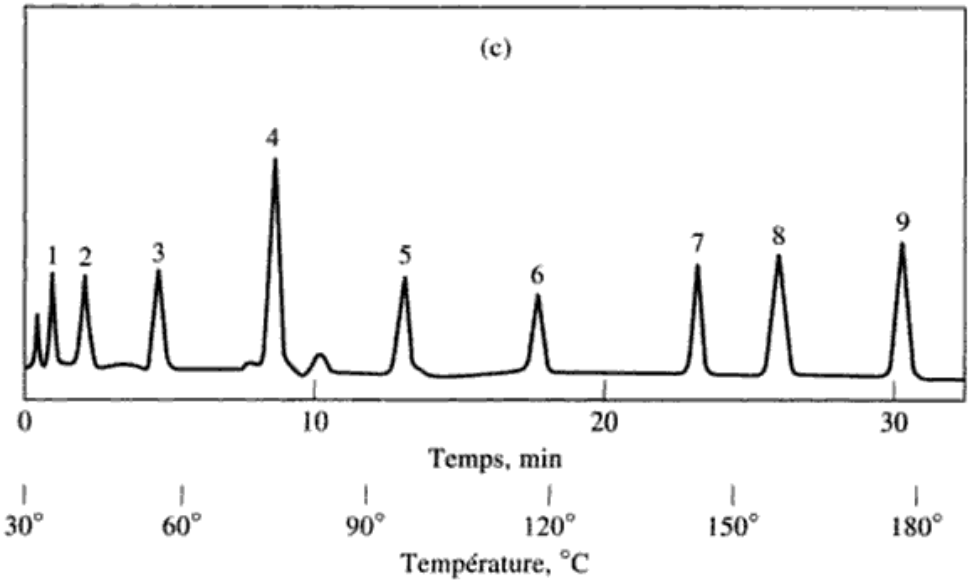
☑ **Chromatographie en phase gazeuse (CPG/GC)**[3]

1. L'échantillon est dilué dans un étalon inerte de concentration connue ? gaz vecteur
2. Le mélange liquide est placé dans une chambre à haute température pour la vaporisation
3. A la sortie de la chambre, les composants gazeux sont entrainés par la phase mobile ? un courant de gaz inerte
4. La phase stationnaire utilisée est la colonne polaire (remplie ou capillaire)[4]

> La vitesse de migration est associée à l'affinité du composé à la phase stationnaire ou à la phase mobile

5. Analyse comparative par chromatogramme. L'apparition des pics est corrélée avec la vitesse de migration
6. Détermination de la concentration de l'espèce identifiée en se basant sur la valeur de l'aire de pic

Figure 5 : Chromatogramme d'un mélange d'alcanes



https://culturesciences.chimie.ens.fr/sites/default/files/2021-05/chromatogramme_c.png

☑ **Chromatographie en phase liquide (CPL/LC)**

1. Dissolution du mélange dans un solvant approprié
2. Injection de l'échantillon dans le système chromatographique
3. La phase mobile (solvant ou mélange de solvants) est pompée à travers la colonne
4. Les composants sont séparés dans une colonne remplie de phase stationnaire solide ou liquide immobilisée
5. Les composants interagissent différemment avec la phase stationnaire, entraînant leur séparation selon leur affinité
6. Les composants séparés passent par un détecteur (UV-Vis, fluorescence, etc.)
7. Un chromatogramme est généré, où chaque pic représente un composant distinct

☑ **Chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC)** ? **voir la page wiki**

Avantages et Inconvénients :

Tableau 1 : Avantages et Inconvénients de chaque type de chromatographie selon le type d'interaction[5]

Type d'interaction	Exclusion stérique	Échangeuse d'ions	Adsorption	Partage

Résolution	Résolution modérée	Résolution modérée à élevée	Faible	Bonne résolution
Capacité	Capacité modérée	Haute capacité	Capacité élevée	Capacité modérée à élevée
Observations diverses	Inconvénients -Moins adaptée pour les petites molécules -Moins de sélectivité pour des composés similaires en taille Avantages +Utilisable pour changer de tampon +Compatibilité avec les détergents	Inconvénients -Nécessite des contre-ions appropriés -Temps d'analyse plus longs Avantages +Très bonne sélectivité +Larges domaines d'application	Inconvénients -Sensible aux variations de la composition de la phase mobile -Coût en solvants élevé Avantages +Moins sensible aux variations de la température	Inconvénients -Technique limitée avec des masses moléculaires élevées -Sensible aux impuretés dans les colonnes Avantages +Technique simple

Tableau 2 : Avantages et Inconvénients de chaque type de chromatographie selon la phase

Type d'interaction	**Chromatographie sur Couche Mince (CCM/TLC)**	**Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG/GC)**	**Chromatographie en Phase Liquide (CPL/LC)**
Résolution	Faible à modérée	Résolution élevée	Bonne résolution
Capacité	Capacité limitée	Capacité élevée	Capacité modérée à élevée
Observations diverses	Inconvénients -Limité aux analyses quantitatives -Sensibilité limitée Avantages +Technique simple et économique +Rapidité	Inconvénients -Nécessite des composés volatils -Coûteuse Avantages +Rapidité +Grande capacité de séparation	Inconvénients -Temps d'analyse plus long -Coûteuse Avantages +Haute résolution +Compatibilité avec un large gamme de détecteurs

.

Références :

1. https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie
2. https://www.maxicours.com/se/cours/realiser-une-chromatographie-sur-couche-mince--seconde--physique-chimie/
3. https://www.maxicours.com/se/cours/les-applications-de-la-chromatographie/
4. https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/chromatographie/la-chromatographie-en-phase-gazeuse-principe
5. https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-laboratoire/la-chromatographie

---

Revision #18
Created 17 May 2024 12:07:50 by Guedj Essa
Updated 19 September 2024 12:09:36 by Fivos