

I. Généralités

I. 1. Principe :

Le principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre deux phases en contact : la phase stationnaire et la phase mobile (gaz ou liquide) qui se déplace. La séparation est basée sur l'entraînement différentiel des constituants du mélange. Ces derniers parcourent la phase stationnaire avec des temps proportionnels à leurs propriétés intrinsèques (taille, structure, ...) ou à leur affinité avec la phase stationnaire (polarité, ...).

A phase mobile **A** phase stationnaire \rightleftarrows

$$K = C_S / C_M$$

K : Coefficient de distribution

C_S : Concentration de l'analyte A dans la phase stationnaire

C_M : Concentration de l'analyte A dans la phase mobile

Chromatographie : partition phase stationnaire - phase mobile

Extraction : partition entre deux phases liquides non miscibles

Cristallisation : partition entre phase liquide - phase cristalline

Distillation : partition entre phase liquide - phase gazeuse

Sublimation : partition entre phase solide - phase gazeuse

I. 2. Classification des méthodes chromatographiques :

On distingue les différentes méthodes chromatographiques selon la nature des phases.

Phase stationnaire : - dans une colonne au travers de laquelle progresse la phase mobile par

Gravité ou sous l'action d'une différence de pression chromatographie

Sur colonne

- sur une surface plane chromatographie sur couche mince (CCM)

Phase mobile : phase qui se déplace sur ou à travers la phase stationnaire, entraînant

Avec elle l'analyte. Le processus d'entraînement de cet analyte est

Appelé élution. La phase mobile peut être un liquide ou un gaz.

I.2.1. Chromatographies en phase liquide (CPL)

La phase mobile est un liquide. On distingue:

- Les chromatographies de partage :

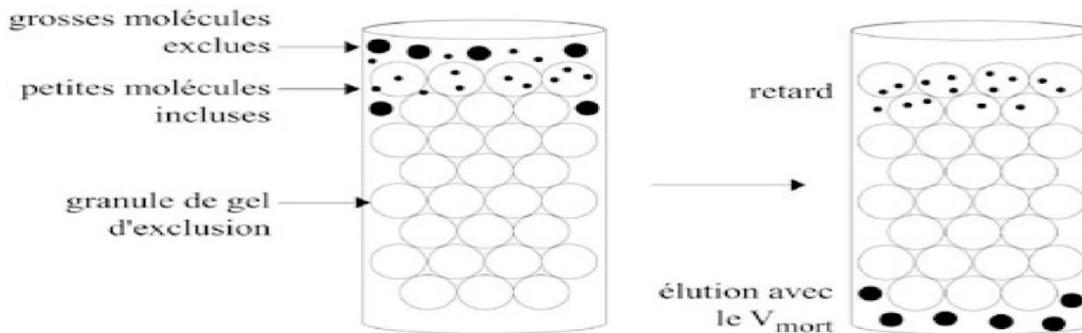
- La chromatographie liquide-liquide (CLL) ou chromatographie de partage :

la phase stationnaire est un liquide immobilisé sur un support solide inerte : soit imprégnée dans un solide poreux (risques de lessivage), soit greffée sur le solide (phase greffée).

La séparation repose sur le coefficient de partage du soluté dans les deux phases liquides.

- La chromatographie d'exclusion, ou perméation de gel, ou tamisage moléculaire :

la phase stationnaire est un solide poreux : les grosses particules sont exclues de la phase fixe, les petites particules incluses diffusent dans les pores du gel et sont donc retardés



Les chromatographies d'adsorption :

- La chromatographie liquide-solide (CLS) ou chromatographie d'adsorption (la plus ancienne et la plus générale) :

la phase stationnaire est un adsorbant solide polaire (silice ou alumine) : chromatographie sur colonne ou CCM. L'analyte adhère à la phase stationnaire par physisorption et chimisorption □ coefficient d'adsorption. La phase stationnaire peut être modifiée pour être apolaire : chromatographie d'adsorption en phase inverse

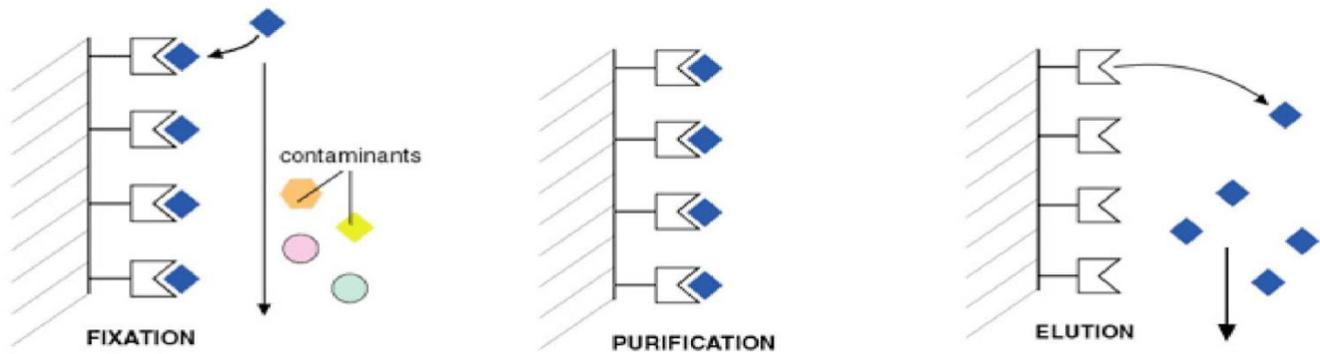


-Les chromatographies d'adsorption :

- La chromatographie par échange d'ions ou chromatographie ionique :

la phase stationnaire est une résine échangeuse d'ions (polymère porteur de groupements ionisés, négativement pour séparer des cations, positivement pour séparer des anions) : interactions électrostatiques.

- La chromatographie d'affinité :
la phase stationnaire est ici un substrat inerte sur lequel est greffé un "effecteur" qui présente une affinité pour un soluté de l'échantillon à analyser (affinité enzyme-substrat, ligand-récepteur, antigène-anticorps).



I.2.2. Chromatographies en phase gazeuse (CPG)

La phase mobile est un gaz vecteur. On distingue :

- chromatographie de partage :
 - La chromatographie gaz-liquide : la phase stationnaire est un liquide immobilisé sur un support solide par imprégnation ou par greffage.
 - chromatographie d'adsorption :
 - La chromatographie gaz-solide : la phase stationnaire est un solide poreux, réservé à l'analyse de mélanges de gaz ou de liquides à bas points d'ébullition.
- Eventuellement, la phase mobile peut être un fluide à l'état supercritique (ex CO₂ à 50°C et

150 bars)

TABLEAU 28-1 Classification des méthodes chromatographiques sur colonne

Classification générale	Méthode spécifique	Phase stationnaire	Type d'équilibre
Chromatographie en phase liquide (CPL) (phase mobile liquide)	Liquide-liquide (CLL) ou partage	Liquide immobilisé sur un solide	Partage entre liquides non miscibles
	Liquide-phase greffée	Espèce organique liée chimiquement à une surface solide	Partage entre liquide et surface greffée
	Liquide-solide (CLS) ou adsorption	Solide	Adsorption
	Échange d'ions	Résine échangeuse d'ions	Échange d'ions
Chromatographie en phase gazeuse (CPG) (phase mobile : gaz)	Liquide-gel (CLG) ou perméation	Liquide dans les interstices d'un solide polymérique	Partage/tamassage
	Gaz-liquide (CGL)	Liquide immobilisé sur un solide	Partage entre gaz et liquide
	Gaz-phase greffée	Espèce organique liée chimiquement à une surface solide	Partage entre gaz et surface greffée
Chromatographie en fluide supercritique (CFS)(phase mobile : fluide supercritique)	Gaz-solide (CGS)	Solide	Adsorption
		Espèce organique liée chimiquement à une surface solide	Partage entre fluide supercritique et surface greffée

I.3. Choix de la technique :

Les différentes techniques sont complémentaires plutôt que concurrentes.

Le choix de l'une ou l'autre dépend :

- de la nature du soluté : gaz, liquide volatil, liquide peu volatil, solide, macromolécule, espèce organique, polaire, ionique,...
- du but de l'analyse : identification de composants d'un mélange, nécessité ou non de "coupler" la chromatographie avec une méthode spectroscopique ou avec la spectrométrie de masse (CPG/SM ou GC/MS), contrôle de pureté, purification de produits (colonnes préparatives), suivi de réaction en continu pour optimiser des paramètres, dosages (quantification)...