

# La chromatographie de partage

## I. Définition

La chromatographie de partage est une chromatographie liquide /liquide donc c'est une méthode qui permet de séparer des molécules suivant leur migration/répartition différentielle (leur partage) dans ces deux phases liquides qui doivent être non miscibles.

## II. Le support

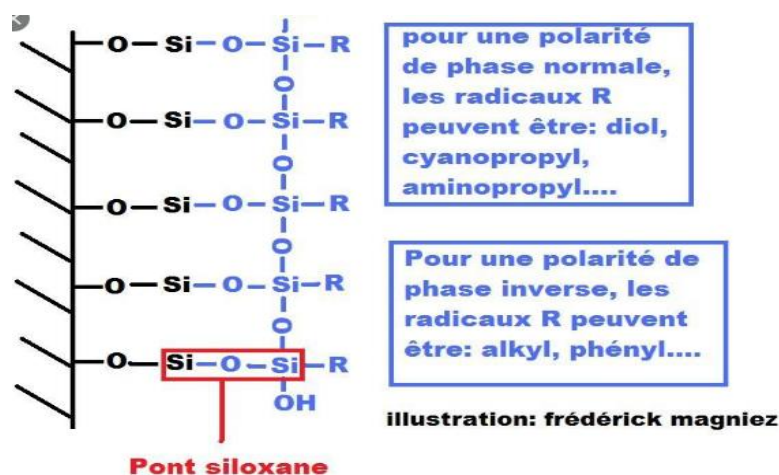
La chromatographie de partage liquide/ liquide peut être réalisée :

**II.1 Sur colonne :** celle-ci est remplie d'un support. Celui-ci est soit un matériau solide fixe et hydrophile (exp : gel de silice  $\text{SiOH}_4$ ) imprégné de liquide, ou bien une phase organique fixée par des liaisons covalentes en établissant des ponts siloxanes ( $\text{Si-O-Si}$ ) sur un support de gel de silice qu'on appelle phase gréffée (Phases polaires : diol-cyanopropyle, aminopropyle et phases apolaires : alkyle, phenyle) dont la polarité est inférieure à celle du gel de silice et est ajustable selon le mélange qu'on a à séparer (**Figure : 01**).

La chromatographie de partage sur colonne est donc divisée en :

- *Chromatographie à polarité de phase normale dite chromatographie en phase normale* ; dans laquelle la phase stationnaire est polaire et la phase mobile est apolaire, les composés polaires étant les plus retenus.
- *Chromatographie à polarité de phase inversée ou reverse, dite chromatographie en phase inverse* ; où la phase stationnaire est apolaire et la phase mobile est polaire, en générale aqueuse. Dans ce cas les composés apolaires sont les plus retenus. C'est actuellement la méthode la plus employée (**Figure 01, Tableau :01**).

Le choix de la phase mobile est important. Il se fait en fonction des molécules à séparer.



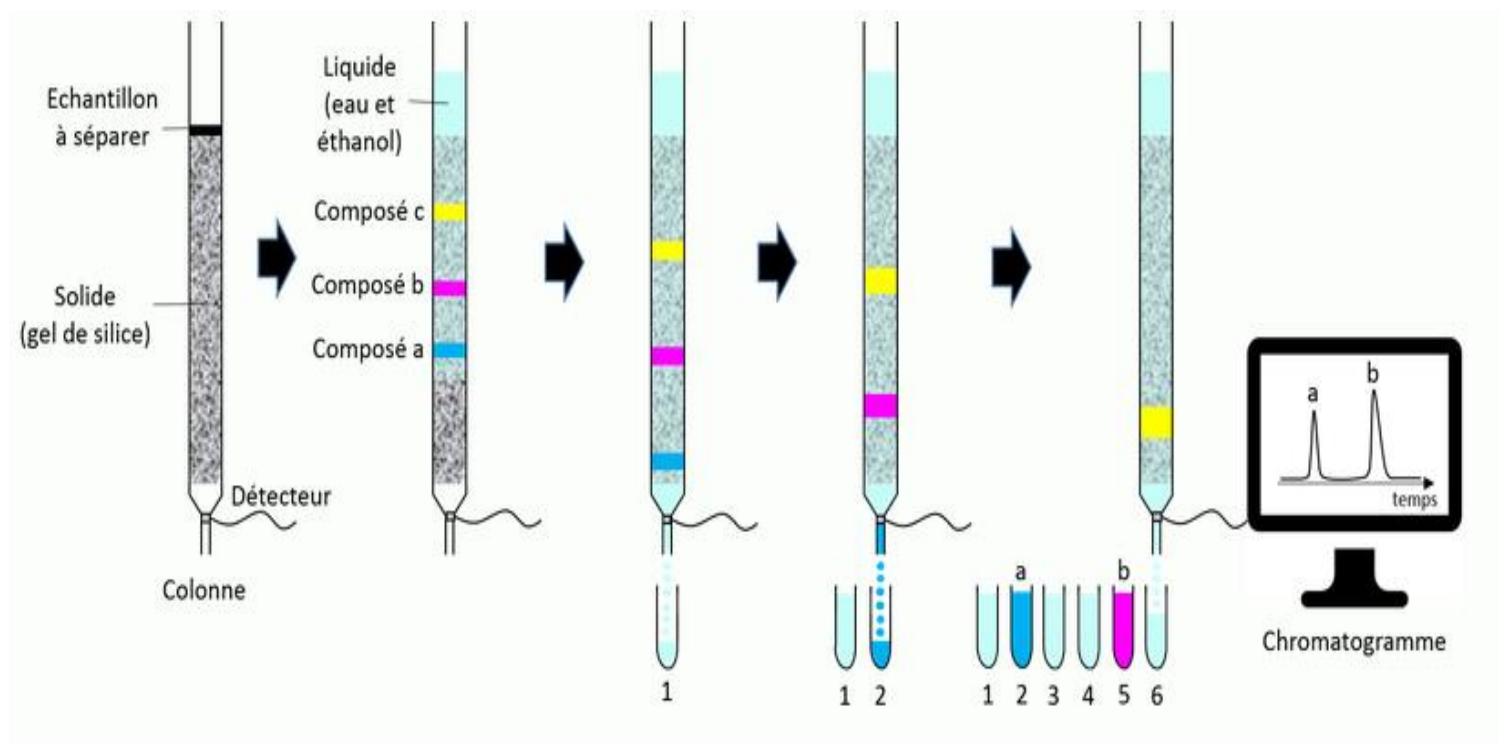
**Figure 01 :** La silanisation (Gel de silice greffé avec différentes phases polaires ou apolaires)

**Tableau 01 :** Les différents types de chromatographie de partage sur colonne

|                           | <b>Phase inverse</b>                                                                                                        | <b>Phase normale<br/>( classique)</b>                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Phase stationnaire</b> | <b>Non polaire</b><br>Exp :<br>Silice greffé par une chaîne alkyle ou phényle                                               | <b>Polaire</b><br>Exp : <ul style="list-style-type: none"> <li>- C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>CN</li> <li>- C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>NH<sub>2</sub></li> <li>- C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>N (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub></li> <li>- diol</li> </ul> |
| <b>Phase mobile</b>       | <b>Polaire</b><br>Exp : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Eau</li> <li>- Méthanol</li> <li>- acétonitrite</li> </ul> | <b>Non polaire</b><br>Exp : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hexane</li> <li>- Chloroforme</li> <li>- Ether</li> </ul>                                                                                                                   |

Pour résumer, la colonne est remplie avec une phase stationnaire (gel de silice ou phase greffée). Une phase mobile ou solvant organique (ça pourrait être un mélange de solvants) dit éluant est introduite au sommet de la colonne et entraine les constituants (ou solutés) du mélange.

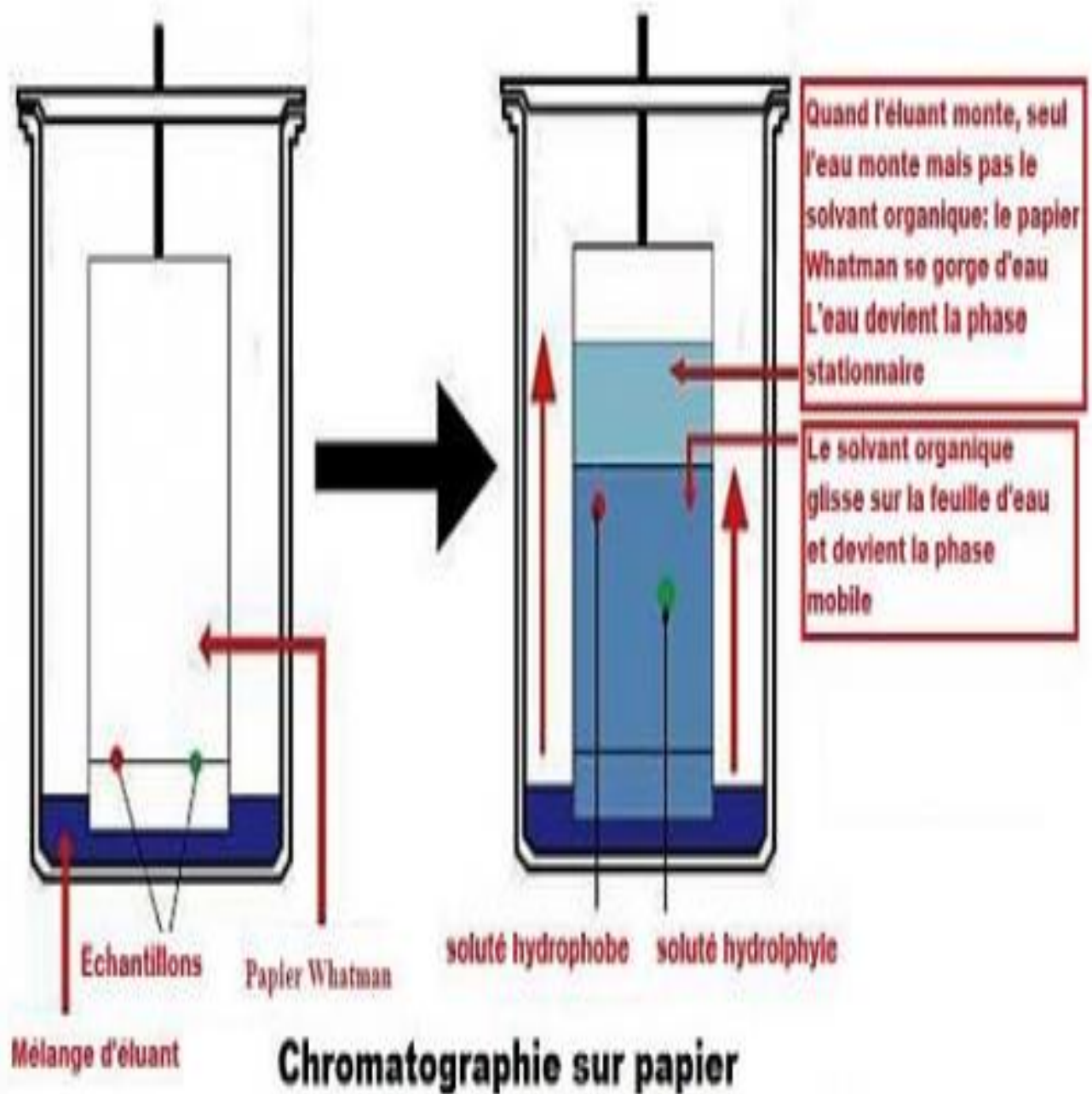
Il existe une série de transfert entre les deux phases. Les constituants du mélange migrent avec des vitesses différentes. Ils sont élués (déplacés) et recueillis séparément, en solution dans la phase mobile, dans un collecteur lié à un détecteur de concentration. Le chromatogramme présente les pics de chaque constituant du mélange à séparer en fonction du temps de son élution (**Figure : 02**).



**Figure :02** Chromatographie d'élution (de partage) sur colonne

**II.2 Sur papier :** on trace délicatement au crayon un trait léger de 1 cm du bas d'une feuille de papier filtre ( membrane de cellulose) de marques ( Whatman, Schleider, Durieux, arches, Shüll), on dépose une goutte de chaque substance à analyser sur un point repère du trait tracé à l'aide d'une micropipette (Tous les dépôts doivent être espacés au moins d'un cm, les uns des autres ), sachant que la phase mobile est le plus souvent un solvant (organique+ eau) et la phase stationnaire est constituée par l'eau elle-même, absorbée par la cellulose du papier ou liée chimiquement à elle. Comme en CCM ( chromatographie sur couche mince), en mettant les échantillons sur le papier, le solvant (dit éluant ou phase mobile) se déplace de bas en haut par capillarité et fait migrer avec lui les composants de l'échantillon à des vitesses variables selon leur solubilité (l'éluant est placé dans un bécher et sa hauteur doit être basse par rapport aux dépôts des échantillons à analyser pour ne pas les solubiliser, le bécher doit être couvert par du verre de montre pour que le milieu soit saturé en vapeur d'éluant)(**Figure : 03**).

Généralement, les composés les plus solubles dans l'eau ou ceux qui forment facilement des associations par liaisons hydrogènes sont fortement retenus par la phase stationnaire et migrent donc lentement. Lorsque le développement est achevé (on laisse l'éluant monter jusqu'à 1 cm du haut du papier, et là on sort la feuille de papier (chromatogramme), on la sèche, on trace un trait là où l'éluant s'arrête de monter qu'on appelle front du solvant et on révèle les taches avec des procédés appropriés (Lampe à UV, Ninhydrine etc).



**Figure :03** Chromatographie sur papier ascendante et unidimensionnelle en phase normale

La chromatographie sur papier est employée principalement pour l'analyse des composés très polaires tels que les acides aminés, sucres etc

Le principe de la chromatographie sur papier ressemble à celle de la CCM mais avec une durée de développement beaucoup plus longue et une séparation généralement moins bonne.

### III. Les principales données théoriques

#### III.1 Colonne

- *Coefficient de partage (K ou Kd)*

La séparation des composés est due à la différence relative de leur vitesse d'élution et donc à la différence de vitesse d'échange entre la phase mobile et la phase stationnaire. Les vitesses d'élution dépendent des coefficients de partage de la molécule entre deux phases.

**K ou Kd= concentration du soluté (ou analyte) dans la phase stationnaire) / concentration du soluté dans la phase mobile=  $C_s/C_m$**

Le coefficient de partage est également appelé constante de distribution.

- *Grandeurs de rétention*

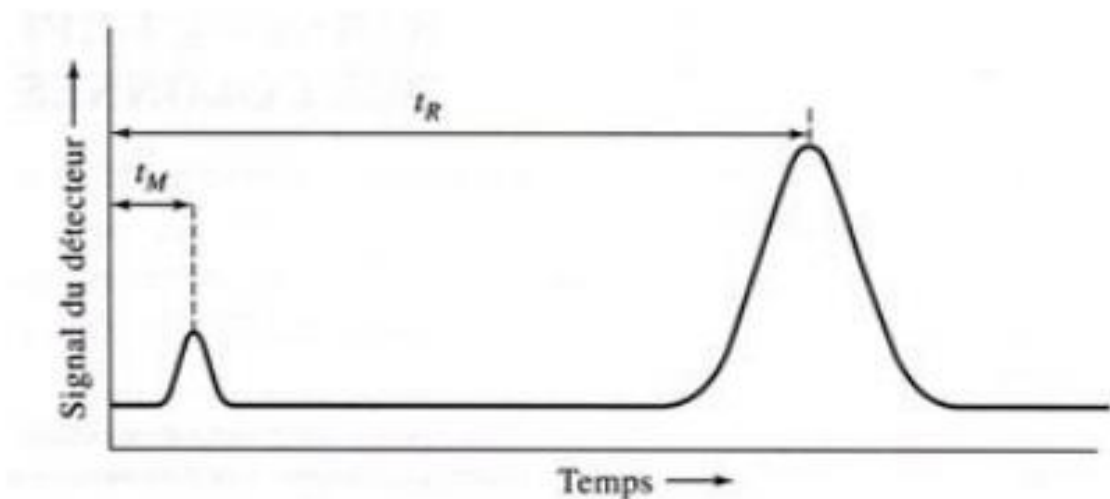
Les grandeurs de rétention sont exprimées en fonction de la distance parcourue par le papier ou en fonction du temps écoulé entre l'injection du mélange et la détection du composé.

### A. Temps de rétention nul ( $t_m$ )

Est déterminé par l'injection d'un composé non retenu est représenté le temps passé par ce composé dans la phase mobile. Il tient compte du temps de parcours dans les tubulures et les connexions du chromatographe (**Figure : 04**).

### B. Temps de rétention du soluté ( $t_r$ )

Il représente le temps passé par le composé dans le chromatographe. La différence entre  $t_r - t_m$  représente le temps passé par le composé dans la phase stationnaire (**Figure : 04**).



**Figure : 04** Chromatogramme d'une substance non retenue et d'une substance retenue

### C. Le volume mort ( $V_m$ )

Il est relié au  $t_m$  par l'équation suivante :

$$V_m = t_m \cdot D \quad (D : \text{Débit de la phase mobile } \text{mls}^{-1} \text{ ou } \text{cm}^3 \text{ s}^{-1})$$

$V_m$  est donc le volume de la phase mobile dans la colonne et les tubulures et connexions.

### D. Le volume de rétention ( $V_r$ )

Il est donné par la relation  $V_r = t_r \cdot D$

Il représente le volume de la phase mobile nécessaire pour transporter le composé de l'injecteur au détecteur. La différence **V<sub>r</sub>-V<sub>m</sub>** représente le volume de la phase mobile nécessaire à éluer le composé fixant la phase stationnaire.

#### **E. Facteur de rétention K' ( ou de capacité)**

Il représente la capacité de la colonne à retenir une substance. Plus K' est élevé, plus le composé est retenu. Lors de la chromatographie, le composé se répartit entre les deux phases mobile et stationnaire. Le facteur de capacité représente cette répartition massique entre les deux phases.

$$k' = \frac{m_s}{m_m} = \frac{C_s \cdot V_s}{C_m \cdot V_m} = K \cdot \frac{V_s}{V_m}$$

**V<sub>s</sub>** : Volume de la phase stationnaire

**V<sub>m</sub>** : Volume de la phase mobile

**V<sub>s</sub> = V Totale du système de chromatographie- V<sub>m</sub>**

**m<sub>s</sub>** : masse du soluté dans la phase stationnaire

**m<sub>m</sub>** : masse du soluté dans la phase mobile

**C<sub>s</sub>** : concentration du soluté dans la phase stationnaire

**C<sub>m</sub>** : concentration du soluté dans la phase mobile

**K** : coefficient de partage

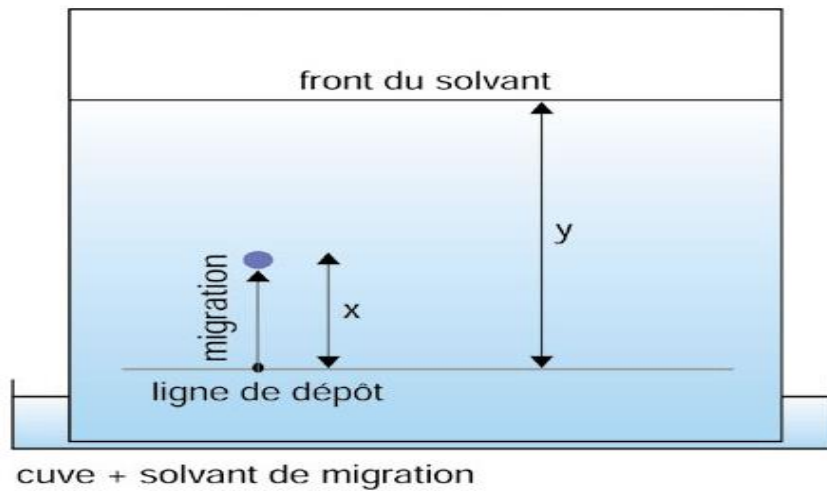
### **III.2 Sur papier**

- *Le rapport frontal (R<sub>f</sub>)*

$R_f = \frac{X}{Y}$  ( $R_f < 1$ ) (**Figure :05**).

Remarque : Un soluté très soluble dans la phase fixe aura un R<sub>f</sub> faible et très soluble dans la phase mobile, son R<sub>f</sub> sera élevé est proche de 1





**Figure : 05** Le rapport frontal