

La chromatographie échangeuse d'ions

I. Définition

Une colonne chromatographique est remplie de résine synthétique chargée (phase stationnaire) sur laquelle sont fixées des ions de charge opposée (mélange à séparer) : si les groupements à séparer sont anioniques, elle est dans ce cas appelée chromatographie échangeuse d'anions et si c'est des groupements cationiques, elle est appelée échangeuse de cations. Le terme ions est utilisé au sens large puisqu'il utilise des polyélectrolytes comme les acides aminés, les protéines ..etc.

II. Différents types de chromatographie échangeuse d'ions

Nous allons prendre comme exemple la séparation des acides aminés. Avant d'expliquer le principe de la méthode de la chromatographie échangeuse d'ions appliquée sur les acides aminés, il faudra tout d'abord expliquer comment les acides aminés seront chargés dans un milieu donné.

Lorsque le pH du milieu $< pHi$ de l'acide aminé \rightarrow l'acide aminé est chargé positivement

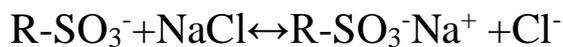
Lorsque le pH du milieu $> pHi$ de l'acide aminé \rightarrow l'acide aminé est chargé négativement

Lorsque le pH du milieu $= pHi$ de l'acide aminé \rightarrow l'acide aminé a une charge nulle.

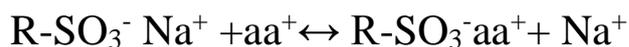
Remarque : plus le pH est loin du pHi, plus l'acide aminé est très positif ou très négatif

II.1 Colonne échangeuse de cations

Elle est constituée de minuscules billes de plastique (résine), d'un diamètre d'environ 0,6 mm. Ces dernières sont constituées de groupements négatifs sulfonés (SO_3^-) qui sont équilibrés avec des sels Na^+ (contre ions) (**Figure 01 et 02**).



Le mélange d'acides aminés à séparer doit être chargé positivement pour qu'il puisse se fixer sur la colonne. Pour cela, il doit être placé dans une solution tampon dont le pH est inférieur au plus petit des pHi des acides aminés. Par la suite, ce mélange est déposé en haut de la colonne ; les acides aminés vont donc déplacer les ions Na^+ et se lier aux SO_3^- .



Les acides aminés basiques seront les plus fortement liés et les acides aminés acides les plus faiblement liés. En augmentant graduellement le pH du milieu et la concentration en NaCl de la solution d'élution (phase mobile), on peut récupérer les acides aminés en annulant leur charge. Donc, les acides aminés se dissocient du SO_3^- et tombent. On peut ainsi collecter par ordre croissant des pHi les acides aminés un à un.



II.2 Colonne échangeuse d'anions

C'est le même principe que la colonne précédente, seulement il s'agit de résine chargée positivement (**Figure 03**) ; ce sont les Na^+ qui sont fixés sur la colonne et qui sont équilibrés par les SO_3^- . Les acides aminés doivent être chargés négativement. Le pH de la solution tampon doit être supérieur au plus grand des pH_i . On applique une diminution graduelle du pH du milieu. Des acides aminés sont alors récupérés selon l'ordre décroissant de leur pH_i .

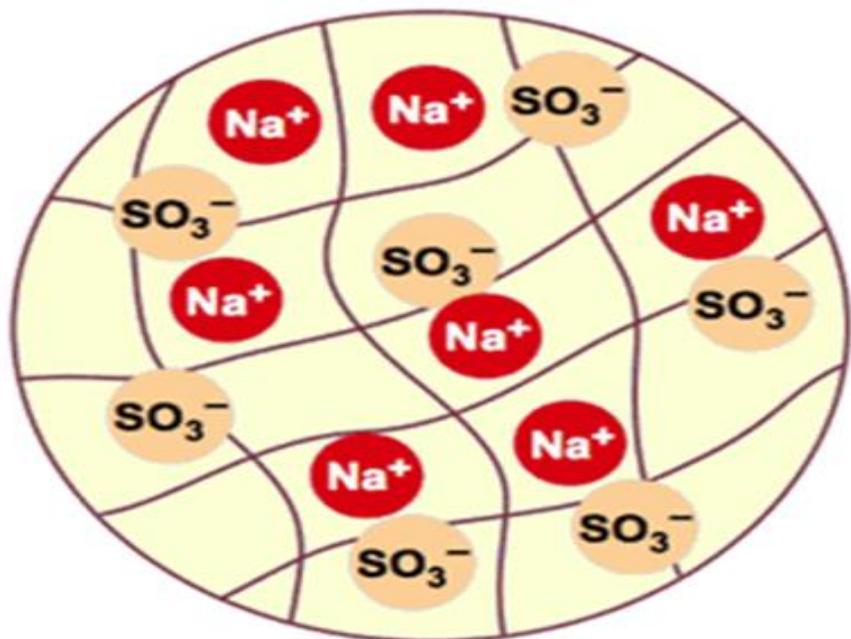


Figure 01 : Bille de résine échangeuse de cations

Résine échangeuse de cations (cationique) :

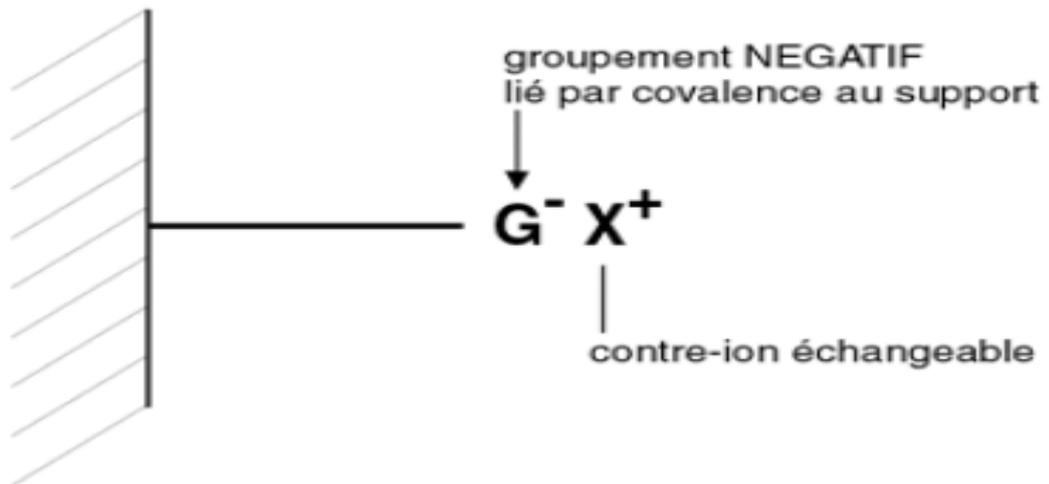


Figure 02 : Résine échangeuse de cations

Résine échangeuse d'anions (anionique) :

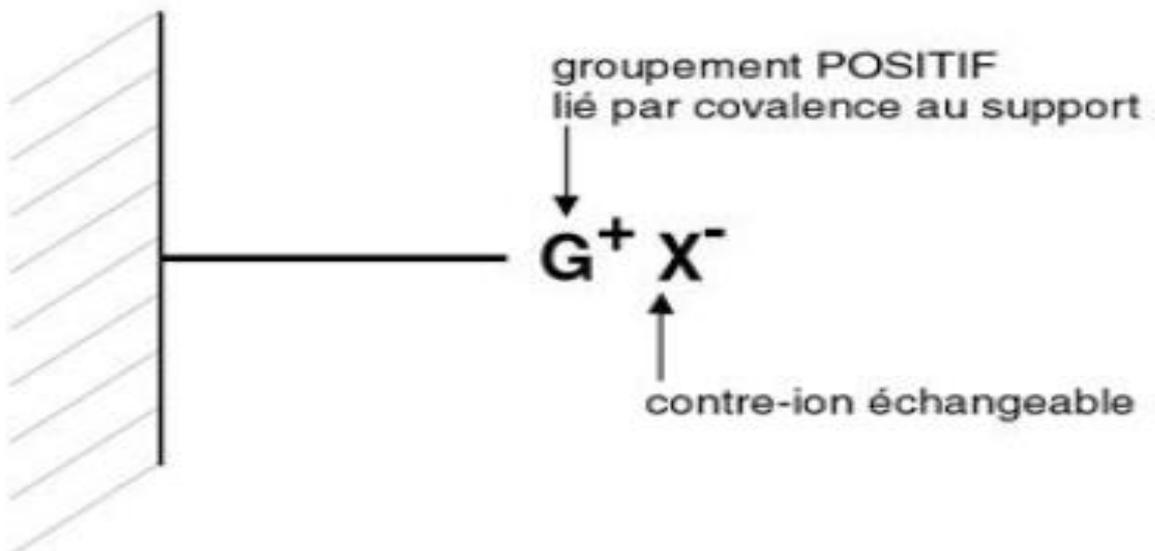


Figure 03 : Résine échangeuse d'anions