

Plan de cours

Introduction

I- Chromatographie

1/ Historique

2/ Définition

3/ Différents types de chromatographie

4/ Choix d'un système chromatographique

I

1 introduction

Les méthodes physiques de séparation sont très nombreuses ,On peut les classer en deux grands groupes : Chromatographie et électrophorèse ,

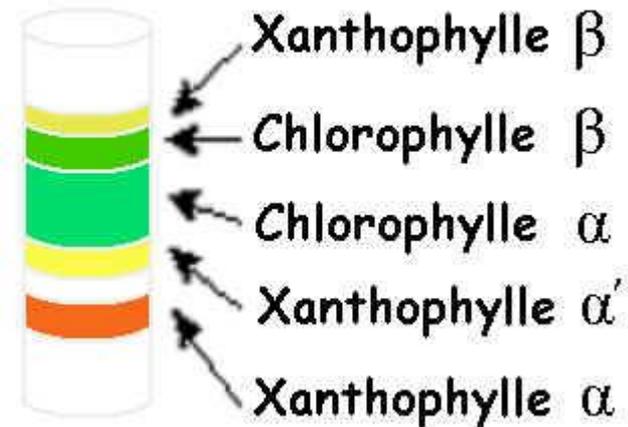
Dans les deux cas les molécules séparées sont ensuite repérées par une de leurs propriétés : affinité pour un colorant spécifique, activité enzymatique, ou immunologique, mesure de radioactivité,

2 Historique

En 1906 un chimiste russe, Tswett, a séparé des pigments végétaux colorés sur une colonne remplie de carbonate de calcium pulvérulent, les pigments étaient entraînés avec de l'éther de pétrole (mélange pentanes et d'hexanes). Il a observé sur la colonne la formation de bandes de couleur différente (vert, orange, jaune..).

Il a donné à cette technique le nom de chromatographie (écriture des couleurs).

Il a défini également les termes : chromatogramme, élution, rétention.



3 Définition

La chromatographie sous toutes ses formes, est une **méthode de séparation** des constituants d'un mélange gazeux, liquide ou solide. .

La chromatographie est une technique de séparation des constituants d'un mélange basée sur les interactions entre **trois produits** lors d'un processus dynamique : le composant (produit contenu dans le mélange), **la phase mobile** (le solvant) et **la phase stationnaire** (cellulose, silice, alumine, etc...)

L'origine du mot chromatographie vient peut-être de la séparation de composés colorés puisque chroma (Χρῶμα) en grec, signifie **couleur** et graphein signifie **écrire**.

Analyse standards de biochimie :

Profil biochimique du sang

- Troubles hydro-électrolytiques : sodium, potassium, chlore
- Equilibre acido-basique : gaz du sang artériel/veineux (H⁺, PCO₂ et PO₂), acide lactique
- Bilan rénal : urée, créatinine
- Bilan inflammatoire : VS, CRP
- Bilan ferrique : fer, transferrine, CSS, CTF
- Métabolisme osseux : calcium, phosphore, phosphatases alcalines
- Bilan lipidique : cholestérol, triglycérides
- Bilan myocardique : troponine, myoglobine, BNP, CKMB, LDH
- Bilan hépatique : albumine, bilirubine, phosphatases alcalines, γ -GT, transaminases
- Bilan pancréatique : amylase, lipase
- Bilan thyroïdien : hormones thyroïdiennes
- Creatinine kinase (CK)
- Glucose
- Ethanol
- Acide urique
- Protéines totales
- Vitamine B12, folates
- Electrophorèse des protéines sériques

3/Différents types de chromatographie

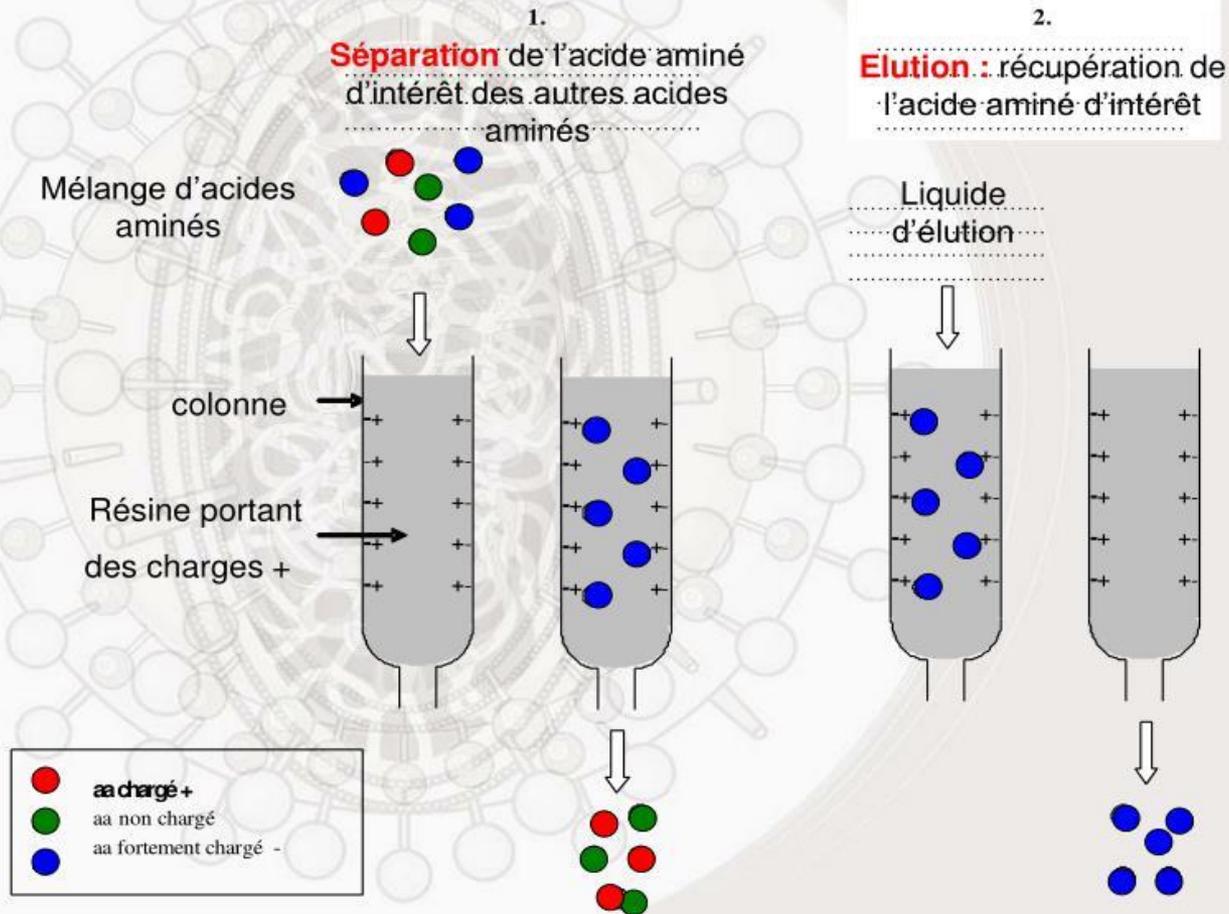
- **Chromatographie d'échange d'ions**
- **Chromatographie d'exclusion- Diffusion**
- Chromatographie d'adsorption (1)
- Chromatographie de partage (2)
- Chromatographie d'affinité (3)
- Chromatographie en phase gazeuse (4)
- Chromatographie sur couche mince (5)
- **Chromatographie liquide haute performance (6)**

Chromatographie d'échange d'ions

[Animation sur la chromatographie d'exclusion](#)

BP Préparateur en pharmacie - Lycée Liberté

Document 8 : chromatographie échangeuse d'ions



Chromatographie d'échange d'ions

1/ Résine échangeuse de cations : la CM-cellulose (carboxyméthyle cellulose) est une résine chargée négativement (R-), les différentes protéines doivent être chargées positivement(+) pour être accrochées à la résine.

Le pH du travail doit être <inférieur à l'ensemble des pHi des protéines (pHi c'est le pH isoélectrique)

2/ Résine échangeuse d'anions : DEAE cellulose (diéthyl amino éthyle cellulose), c'est une résine chargée positivement (R+), les différentes protéines doivent être chargées négativement pour être accrochées à la résine.

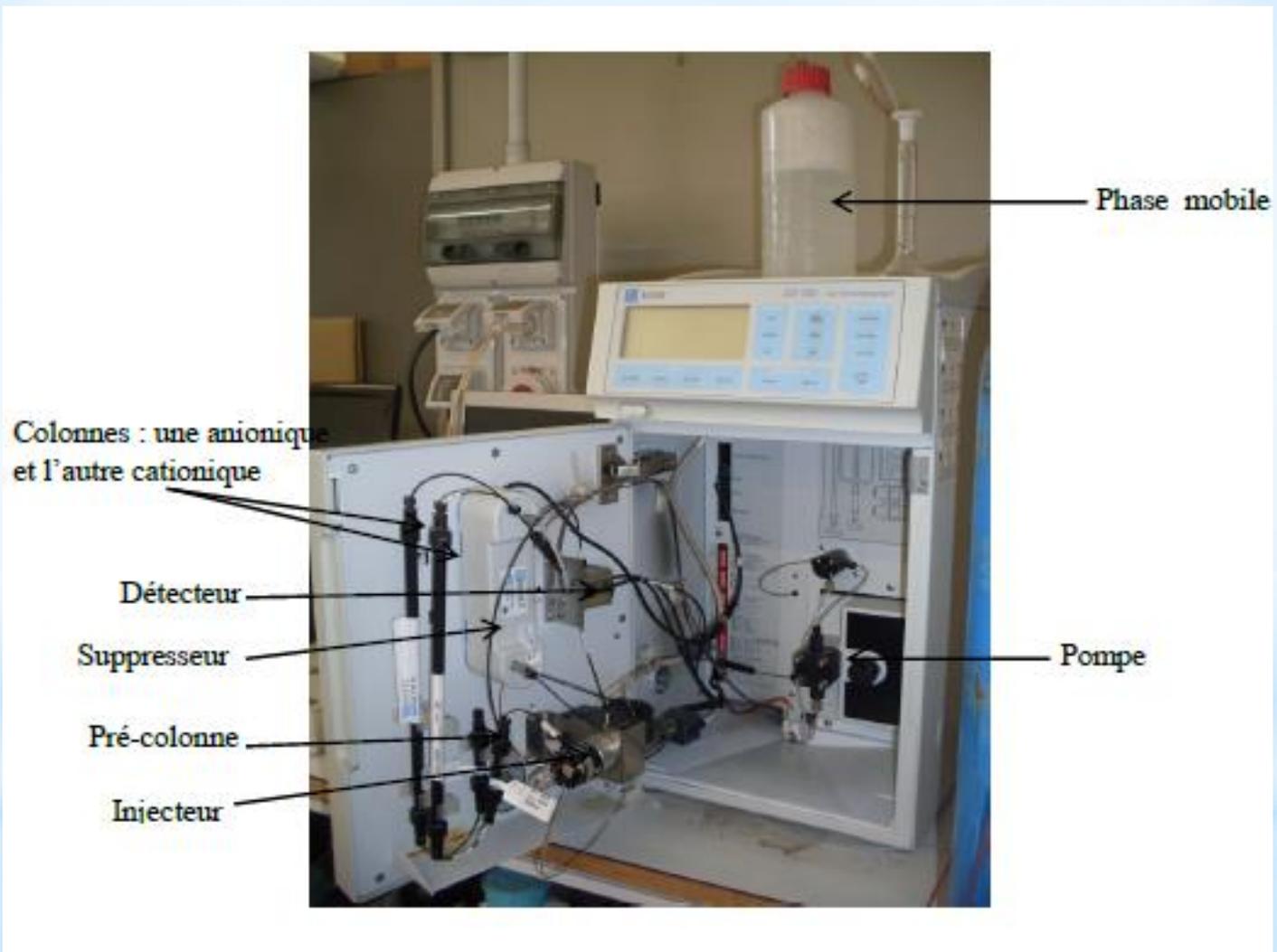
Le pH doit être >supérieur à l'ensemble des pHi des protéines.

<https://www.youtube.com/watch?v=eZz-TrtqdCA>

Chromatographie d'échange d'ions

En chromatographie ionique le mécanisme de séparation se produit par échange d'ions entre une phase stationnaire, qui porte des groupements fonctionnels chargés et **une phase mobile**. Des gels de silice chimiquement modifiés à l'état solide remplissent une colonne d'acier et servent de **phase stationnaire**.

La séparation des molécule donc elle dépend ainsi de leur charge c'est-à-dire en fait du pH du solvant par rapport à leur point isoélectrique



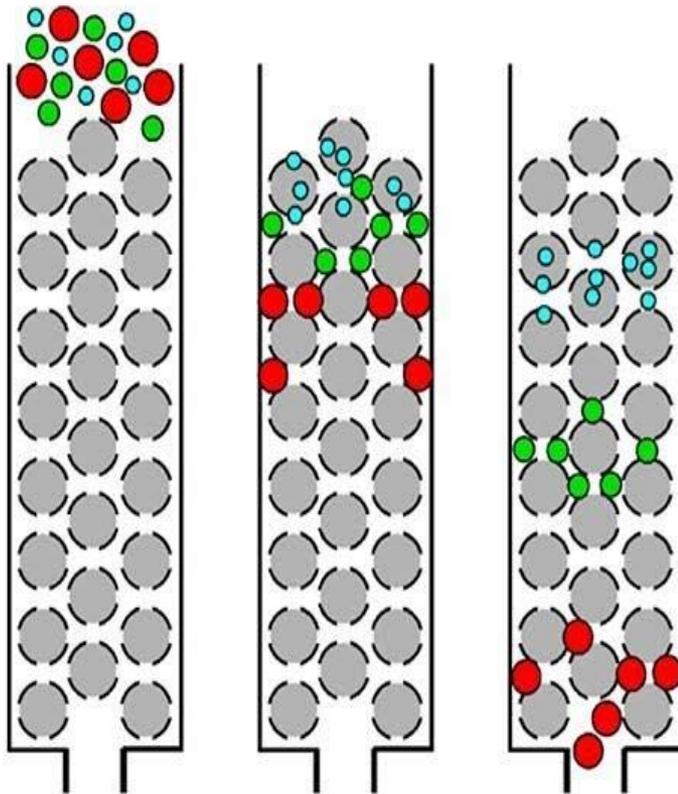
Chromatographie d'exclusion- Diffusion

- La chromatographie d'exclusion permet la séparation des molécules à travers un gel poreux en fonction du poids moléculaire de la protéine.
- En fonction de :
 -  la taille
 -  la forme
 -  poids moléculaire

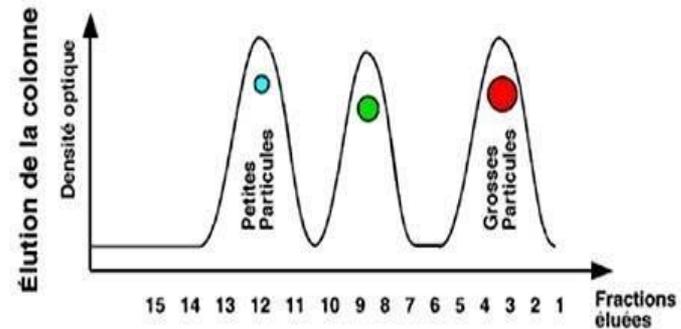


Équipement utilisé pour effectuer la chromatographie d'exclusion moléculaire

Chromatographie d'exclusion



Ou chromatographie gel filtration: la séparation est basée sur la taille des protéines.



- Le gel est composé de billes trouées avec des trous de différents diamètres; les petites molécules pénètrent dans les trous et sortent tardivement et les grandes sortent les premières.

3 Choix d'un système chromatographique

La chromatographie sous toutes ses formes, est une **méthode de séparation** des constituants d'un mélange gazeux, liquide ou solide. Les différentes techniques sont complémentaires plutôt que concurrentes. Le choix de l'une ou l'autre dépend :

- 1. de la nature du soluté** : gaz, liquide volatil, liquide peu volatil, solide, macromolécule, espèce organique, polaire, ionique,...
- 2. du but de l'analyse** : identification, contrôle de pureté, purification de produits (colonnes préparatives), suivi de réaction en continu pour optimiser des paramètres, dosages, quantification...

Domaine d'application de la chromatographie

Domaine d'application très vaste:

- ♣ Industries chimiques ;
- ♣ Agro-alimentaires ;
- ♣ Environnement ;
- ♣ Pharmacie
- ♣ Biochimie.

Avantage: Séparation, identification et quantification de très faibles quantités de produits (\approx ng)