

Une nouvelle technique de chromatographie sur papier

Autor(en): **Potterat, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **47 (1956)**

Heft 1

PDF erstellt am: **10.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983953>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Une nouvelle technique de chromatographie sur papier

Par *M. Potterat*

(Service fédéral de l'hygiène publique, Berne)

La chromatographie sur papier est devenue un instrument d'une telle utilité qu'il n'est pas un laboratoire actuellement où elle ne soit employée, soit sous sa forme traditionnelle, sous des formes améliorées. En effet on a rapidement constaté que, soit en chromatographie ascendante, soit en chromatographie descendante, le pouvoir de séparation des taches était limité. De meilleures séparations ont été obtenues grâce à la chromatographie bidimensionnelle. En 1954 *Matthias* d'une part et *Schwertfeger* d'autre part améliorèrent le procédé en proposant de découper le papier de telle sorte que, par étirement des taches, on arrive à une séparation meilleure. De leur côté *Rutter* (1948) de même que *Zimmermann* et *Nehring* (1951) parvinrent à d'excellentes séparations grâce à la chromatographie circulaire. Cette technique présente, par rapport aux autres formes de chromatographie, un pouvoir de séparation étonnement élevé, qui est dû principalement à l'étirement des spots sous forme de cercles.

Une étude de ces différentes techniques nous a amenés à la conclusion que la méthode de *Matthias* donnait d'excellents résultats, comparables à ceux fournis par la chromatographie circulaire, pour autant que l'on ait soin que l'étirement des spots soit continu. En effet le spot commence à s'élargir dès qu'il passe dans la partie parallèle de la bande (fig. 1.1). On évite ce phénomène en prolongeant le cône jusqu'à ce qu'on obtienne, pour finir, des bandes de forme triangulaire (voir la fig. 1.2).

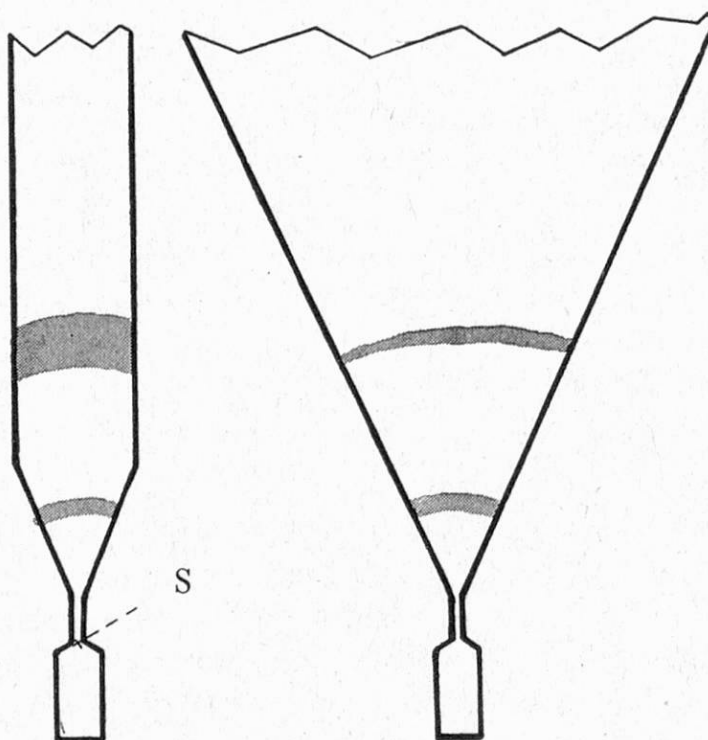


Fig. 1

Cependant la coupe de ces triangles est longue et leur manipulation malaisée, ce qui nous a incité à rechercher une autre forme de chromatographie ayant les mêmes avantages que celle proposée par *Matthias* avec en plus la possibilité de comparer les chromatogrammes. Nous sommes arrivés au but en combinant la technique de cet auteur avec la chromatographie circulaire.

Préparation du chromatogramme

On plie très soigneusement une feuille de papier-filtre en huit comme le montre la figure 2 et on dessine le bord extérieur au diamètre voulu à l'aide d'un compas.

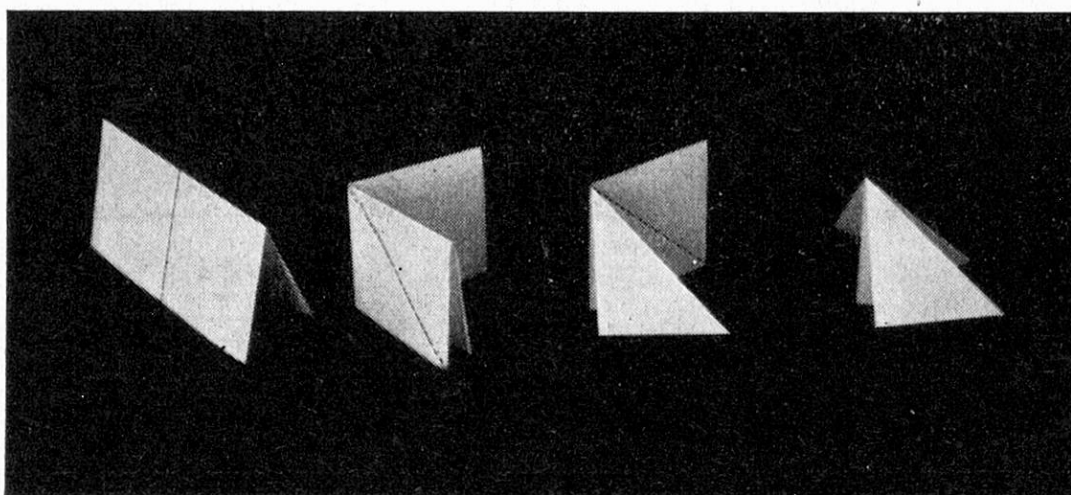


Fig 2

On perce ensuite deux trous près de la pointe à l'aide d'une perceuse de bureau munie d'un arrêt en carton (voir fig. 3, C). Les dimensions de ce dernier doivent être telles que les trous dépassent les bords et soient distants de 2 mm environ. On fait une marque au crayon à 15 mm des trous. Ces dimensions restent toujours les mêmes, quelque soit le diamètre du disque.

Après avoir découpé le bord extérieur, on découpe de chaque côté un triangle selon une ligne allant de l'intérieur du trou à la marque. Pour finir on enlève encore 1 mm de papier à la pointe.

On déplie ensuite le tout en ayant soin de forcer les plis dans le sens opposé. On obtient ainsi un disque représentant 8 chromatogrammes selon *Matthias* reliés entre eux (voir fig. 5).

Le *diamètre du disque* dépend des dimensions des capsules que l'on a à disposition, des buts de l'analyse, des propriétés des substances à analyser, etc. Il peut varier de 15 à 60 cm, 25 à 30 cm étant la grandeur la plus courante utilisée au cours de ces travaux.

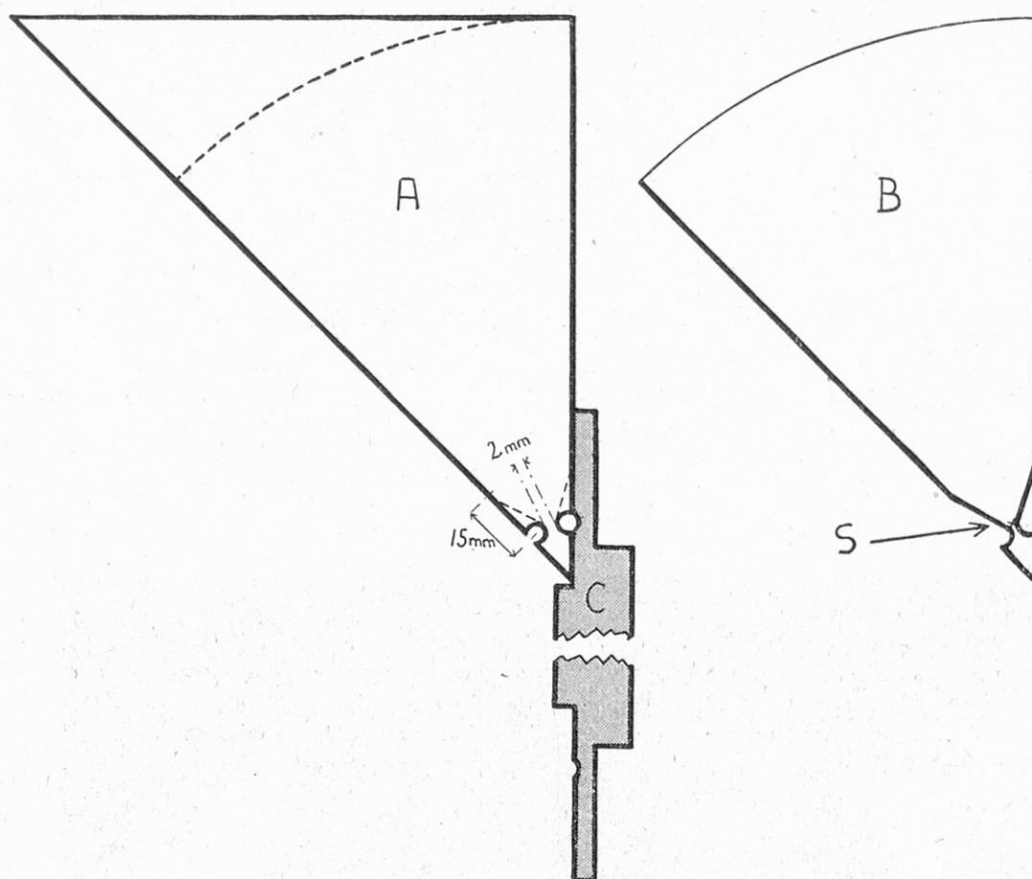


Fig. 3

L'alimentation se fait par une mèche composée d'un rectangle de papier-filtre roulé serré que l'on introduit dans le trou central, dont la diamètre doit avoir au plus 2 à 3 mm. La mèche, en général longue de 25 mm, ne doit dépasser le disque que de 2 à 4 mm. Pour un alimentation abondante on peut utiliser aussi des mèches faites de ouate.

Les spots initiaux ne sont pas disposés à l'entrée du pont, comme chez *Mathias*, mais juste à la sortie, de telle sorte que le pont lui-même soit imprégné (fig. 3, S).

Le développement se fait en capsule de Petri (B) de 24 à 28 cm de diamètre, le solvant étant contenu dans une petite capsule de Petri (C) dont le fond est tapissé d'un papier filtre rond pour assurer un bon contact du dissolvant avec la mèche (D). Le chromatogramme (F) est soutenu par un anneau en plastique (H) de diamètre approprié et de 1 cm de haut. Le tout est recouvert d'une plaque de verre (A).

Deux façons d'opérer ont été mises au point, dont l'utilisation dépend du but de l'analyse et des conditions chromatographiques.

a) *méthode sans évaporation*: on donne au chromatogramme un diamètre légèrement inférieur à celui de la capsule de Petri et on développe jusqu'à ce que le dissolvant ait atteint le bord du disque de papier (voir fig. 4.1).

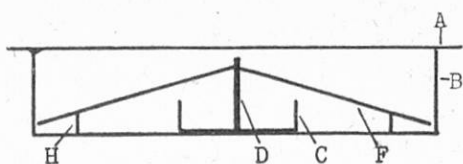


Fig. 4.1

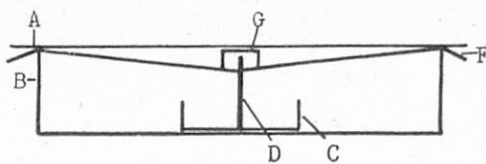


Fig. 4.2

Cette méthode donne de bons résultats dans tous les cas où les substances à séparer ont des Rf distincts. En général la durée de développement n'excède pas 12 heures.

b) *méthode avec évaporation*: on donne au chromatogramme un diamètre supérieur à celui de la capsule de Petri et on le dispose comme il est indiqué à la figure 4.2. On utilise cette méthode pour tous les cas où il est nécessaire de prolonger le développement pour obtenir une séparation plus nette, le prolongement étant dû à l'évaporation du dissolvant sur les bords du disque. Le dissolvant doit être constitué de telle sorte que les substances à séparer aient un Rf assez faible. Dans ce cas la durée de développement est assez variable et dépend du corps qui a le plus grand Rf.

Discussion

La quantité de substance à chromatographier peut varier de quelques μg à plusieurs mg. La tache formant un arc de cercle très étroit, il a été possible d'abaisser la limite à laquelle une identification est encore certaine. Cette limite se situe pour certains sucres aux environs de $5 \mu\text{g}$. Il est clair qu'elle dépend aussi du révélateur.

D'autre part tout le dissolvant devant passer sur la tache initiale, il a été possible de pousser la limite supérieure à plusieurs mg sans que la séparation en soit affectée et sans qu'il y ait formation de queues.

La comparaison de deux secteurs est aisée puisque ceux-ci, ainsi que par conséquent les taches, se touchent. Il est ainsi possible de dire si une tache correspond à sa voisine, toutes les conditions étant identiques pour les deux chromatogrammes au point de jonction.

On peut encore améliorer la séparation et la finesse des spots en réglant la vitesse d'alimentation, ce qui se fait aisément en changeant les dimensions ou la nature de la mèche. En général nous avons utilisé des mèches hautes de 25 mm et larges de 15 mm. On aura une alimentation abondante en utilisant de la ouate (Venner 1955).

Applications

Une des premières applications de la technique décrite ci-dessus a été la séparation des sucres. On a réussi à séparer, en 10 heures, le lactose, le maltose, le saccharose, le glucose et le fructose avec le mélange n-propanol-acétate d'éthyle-eau (65 : 10 : 25) en travaillant sans évaporation. Avec évaporation il est

possible de séparer, avec le même mélange, le galactose du glucose et le mannose du fructose. Les taches obtenues sont nettes et parfaitement séparées les unes des autres. Pour la révélation on a utilisé la méthode de *Buchan et Savage* (1952), qui consiste à pulvériser sur le chromatogramme un mélange de 5 parties d'une solution alcoolique à 4 % d'aniline, 5 parties d'une solution alcoolique à 4 % de diphénylamine et 1 partie d' H_3PO_4 sirupeux et à chauffer le tout pendant 5' à 100° .

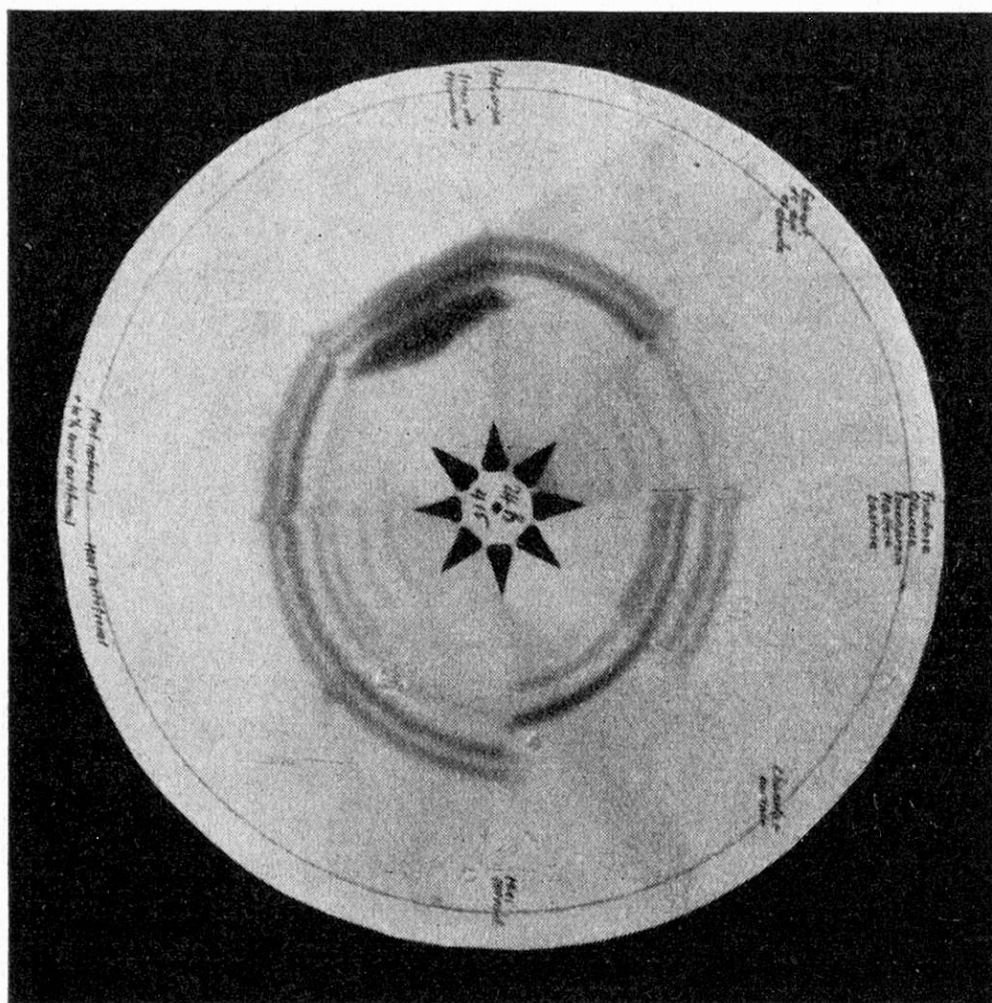


Fig. 5

Mais la séparation est tout aussi bonne en partant de denrées alimentaires. Les produits analysés sur le chromatogramme représenté à la figure 5 ont été simplement dissouts dans de l'eau et la solution portée telle quelle sur le disque. On peut ainsi retrouver 5 à 10 % de miel artificiel dans un miel naturel en utilisant 10 μ l d'une solution à 50 %; on peut se convaincre qu'un chocolat au lait en solution à 20 % ne montre que du lactose et du saccharose alors qu'un chocolat sans lait contient, en plus du saccharose, des traces d'une autre sucre; une solution à 10 % d'extrait de café et de chicorée contenant 50 % d'hydrates de carbone présente une composition rappelant celle du sirop de glucose; de son

côté le sirop de framboise, dilué trois fois, ne contient d'autres sucres que le saccharose, le glucose et le fructose; pour terminer on constate qu'une malvoisie, portée telle quelle sur le chromatogramme, contient à peu près autant de glucose que de fructose. L'identification est simple si l'on a soin d'intercaler un ou deux chromatogrammes avec des substances pures. On peut aussi se servir de la méthode qui consiste à ajouter le corps supposé à la substance analysée: il ne doit pas se former de tache supplémentaire.

Une autre application intéressante fut la séparation des acides malique, citrique, tartrique, glycolique, succinique et lactique avec le mélange phénol-eau-acide formique (150 : 50 : 2).

En outre la technique a donné de bons résultats en ce qui concerne la séparation de colorants, d'acides aminés, de purines ainsi que de la créatinine et de la créatine selon *Acker* et al. (1955).

Partout on a obtenu des taches nettes et bien délimitées, sans formation de queues, ce qui nous a permis de séparer des substances ayant des R_f très rapprochés. La facilité et la rapidité avec lesquelles on peut préparer les disques représentent aussi un avantage appréciable et un gain de temps non négligeable.

Résumé

On décrit une nouvelle technique de chromatographie circulaire dans laquelle on a introduit les modifications proposées par *Matthias*. Grâce à la netteté des bandes il a été possible d'obtenir de très bonnes séparations dans le domaine des sucres, des acides organiques, des acides aminés, des purines, etc.

Zusammenfassung

Die von *Matthias* vorgeschlagene Modifikation der Papierchromatographie wird auf die Rundfildertechnik übertragen. Auf Grund der scharf begrenzten Streifen konnten sehr befriedigende Resultate bei der Trennung von Zuckern, organischen Säuren, Aminosäuren, Purine usw. erzielt werden.

Summary

A new technique of circular paper chromatography is described; it includes the modifications proposed by *Matthias*. Mixtures of sugars, or of organic acids, amino acids, purines, etc. have thus been separated very satisfactorily.

Bibliographie

Acker, Diemair, Pfeil, Schiffner, Z. anal. Chem. **148**, 10 (1955).

Buchan, Savage, The Analyst **77**, 401 (1952).

Matthias, Naturwissenschaften **41**, 17 (1954).

Rutter, Nature **161**, 435 (1948).

Schwerdtfeger, Naturwissenschaften **41**, 18 (1954).

Venner, Naturwissenschaften **42**, 179 (1955).

Zimmermann und Nehring, Angew. Chem. **63**, 556 (1951).