

CHROMATOGRAPHIE

La chromatographie est une méthode physique de séparation (avant : on a un mélange ; après : les constituants du mélange sont séparés les uns des autres.) basée sur les différences d'affinités d'espèces initialement mélangées à l'égard de deux phases, l'une fixe, l'autre mobile.

Le mélange d'espèces est initialement placé, déposé dans ou sur la phase stationnaire et se trouve confronté à un *courant* de phase mobile. Certaines espèces du mélange étudié ont une grande affinité avec la phase mobile et sont facilement entraînées. Au contraire, celles qui ont peu d'affinité avec la phase mobile sont plutôt retenues sur la phase stationnaire et se déplacent plus lentement (on peut faire un raisonnement ressemblant en considérant les différences d'affinité avec la phase stationnaire). Quand le courant de phase mobile est passé, les différentes espèces, initialement mélangées et déposées au même endroit, ont avancé plus ou moins vite et se retrouvent séparées. On peut alors envisager d'identifier les espèces qui constituent le mélange initialement déposé.

CCM (chromatographie sur couche mince) :

-La phase mobile est liquide, c'est un solvant ou un mélange de solvants. On l'appelle éluant. Le déplacement de cet éluant à travers la phase fixe est appelé élution.

-La phase stationnaire est un solide (à base de silice, de cellulose ou d'alumine le plus souvent) déposé en fine couche ("couche mince") sur une plaque rigide (aluminium, matière plastique).

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Sur cette plaque, on trace une "ligne de dépôt" sur laquelle on dépose des "microgouttes" des différents mélanges ou espèces de référence (liquides ou solides dissous dans un solvant qu'on évaporerait) à étudier. On sèche, on place la plaque ainsi préparée dans une cuve contenant l'éluant (phase mobile). On observe bien le front d'éluant monter le long de la plaque, mais on ne voit pas forcément les taches déposées au début monter et se séparer, puisque le plus souvent, les substances sont incolores ! Il faut donc procéder à une révélation du chromatogramme...à l'aide d'un révélateur, comme en photographie. Enfin, on peut interpréter le chromatogramme obtenu.

ORDRE DES OPÉRATIONS

- Verser le solvant au fond de la cuve. (pas plus que 0,5 cm de hauteur de liquide)
- Tracer la ligne de dépôt sur la plaque. (à au moins 1 cm du bord)
- Faire les dépôts sans trembler (espèces étudiées et références, séparées d'au moins 1,5 cm sur la ligne de dépôt).
- Sécher. (afin d'évaporer le solvant qui a servi aux dépôts)
- Déposer délicatement la plaque dans la cuve.
- Laisser le front de solvant progresser.
- Quand le front de solvant est arrivé à peu près en haut (environ à 1 cm du bord supérieur), retirer la plaque et la sécher.
- Révéler... (différentes techniques possibles...)
- observer et interpréter le chromatogramme, conclure.

COMMENT RÉUSSIR UNE BONNE CCM ? (espèces bien séparées après élution)

Ce qui fait avancer plus ou moins vite les taches de espèces déposées sur une plaque de chromatographie, ce sont les affinités (les points communs structuraux) entre les molécules de ces espèces et les molécules présentes, d'une part dans l'éluant (**phase mobile**), d'autre part dans le support solide (**phase fixe**). On a vu quels types d'interactions inter-moléculaires étaient à l'origine de ces affinités. On peut donc déjà, connaissant les formules développées des molécules étudiées, repérer une particularité (le plus souvent la polarité de la chaîne ou du groupe fonctionnel) et chercher un éluant possédant la même particularité ou tout au moins quelque chose qui y ressemble (tout simplement un groupe fonctionnel analogue).

C'est à partir de là que cela se complique. L'éluant doit être choisi de manière à entraîner les espèces chimiques étudiées, mais tout en prenant progressivement de l'avance sur elles (à la fin d'une bonne CCM, le front de solvant a pris quelques millimètres d'avance sur les taches des substances les plus déplacées). Il faut donc la plupart du temps procéder à des essais jusqu'à trouver le meilleur éluant (qui est souvent un mélange de solvants).

On va utiliser des tableaux, des listes, où les solvants, les phases fixes courantes, les principaux groupes fonctionnels sont classés par polarité croissante (on dit alors par pouvoir éluant croissant). La liste proposée est appelée série éluotropique.

Nous raisonnerons toujours par rapport à une phase fixe particulière, quitte à reprendre ensuite les raisonnements avec un autre support. la phase fixe la plus employée en TP de chimie organique est la silice. C'est un adsorbant assez *actif* (qui retient assez fortement les composés **polaires**). On est aussi amené à utiliser des plaques d'alumine et de cellulose.

TROUVER RAISONNABLEMENT LE MEILLEUR ÉLUANT

Il ne faut bien sûr pas choisir au hasard. On fait par exemple deux premiers essais avec deux solvants très différents, l'un très polaire, l'autre très apolaire. On recommence en utilisant des solvants moins extrêmes dans la série éluotropique, etc... Très vite, on voit la nécessité, l'avantage d'utiliser un mélange de solvants dont l'un serait polaire et l'autre non et dont on ferait varier les proportions jusqu'à obtenir un essai concluant (*attention, les solvants mélangés doivent être miscibles et on est parfois amené à en rajouter un troisième pour obtenir un éluant homogène*). En réalité, la plupart du temps, l'éluant est un mélange de solvants qui se ressemblent, on arrive à séparer des substances très analogues (ex.: différencier des acides aminés).

RÉVÉLATION

On sait qu'il est parfois nécessaire de révéler un chromatogramme si les substances déposées sont incolores. On peut pulvériser (ou recouvrir avec un pinceau) un *révélateur* (puis, souvent, chauffer dans une étuve ou, pourquoi pas, sur une plaque chauffante). Il existe d'autres méthodes très rapides:

- Radiation UV

En plaçant la plaque sous une lampe UV, certains composés apparaissent sous forme de taches brillantes.

- Fluorescence

Si un indicateur fluorescent est incorporé à l'adsorbant (*voir les catalogues, ce n'est pas plus cher*), la plaque entière devient fluorescente lorsqu'on la place sous une lampe UV; les composés y sont révélés sous forme de taches sombres.

On discutera toutefois des deux cas possibles : soit la substance n'absorbe pas la radiation UV 254 nm, soit elle l'absorbe, mais dans les deux cas on voit la tache).

révélateurs courants :

- **Diode :**

L'iode réagit avec un grand nombre de composés organiques en formant des complexes jaunes ou bruns. La révélation est réalisée en mettant la plaque, préalablement séchée, en présence de quelques cristaux d'iode dans un récipient fermé...Les vapeurs d'iode s'accrochent aux taches et les révèlent .

- **Ninhydrine :** pas proposé en term S (sécurité)

OBJECTIF DE LA SÉANCE

Choisir un parfum et déterminer par CCM s'il contient du citral ou du limonène.

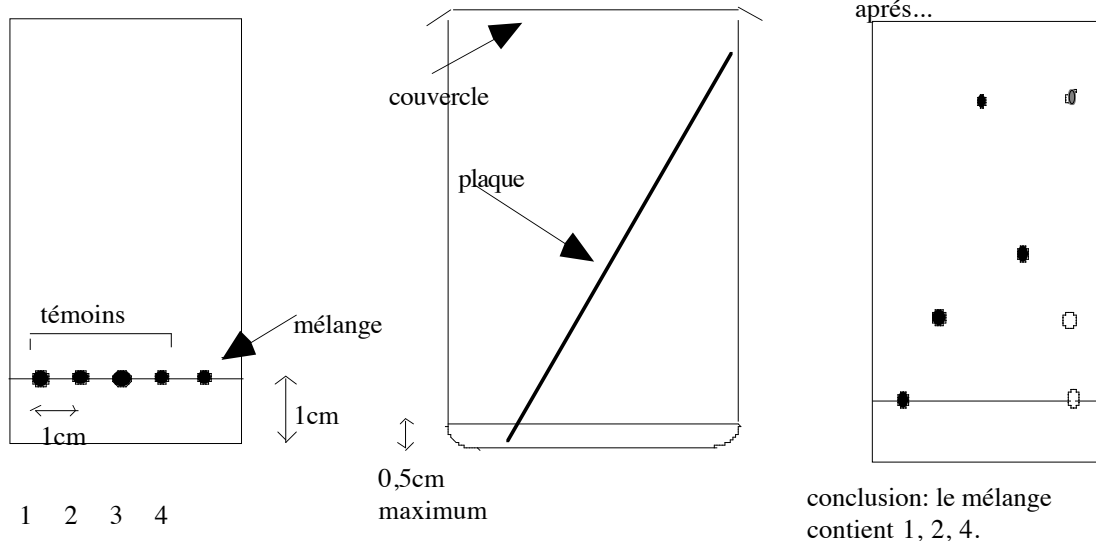
(le mode opératoire sera présenté dans le compte rendu, ainsi que les conclusions...)

il faudra commencer par trouver le meilleur éluant pour le parfum choisi.

(Les explications de la progression menant au meilleur éluant seront détaillées dans le compte-rendu)

ANNEXES

Schémas illustratifs :



Série éluotrope :

(plus on avance dans la liste ci-dessous,
plus le solvant a un pouvoir éluant fort, plus il est polaire, plus des espèces elles-mêmes polaires seront fortement entraînées par cet éluant)

éther de pétrole (mélange d'alcane) ; cyclohexane ; tetrachlorométhane ;
trichloroéthène ; toluène ; benzène ; dichlorométhane ;
éther diéthylique ; trichlorométhane ; éthanoate d'éthyle ;
pyridine ; propan-1-ol ; éthanol ; méthanol ;
eau ; acide éthanoïque (acide acétique) .

Polarité croissante des principaux groupes fonctionnels :

R-H R-X R-NO₂ (R-O-R, RCOOR',RCOR', RCH=O) RCONHR'
RNH₂ ROH H₂O ArOH RCOOH