

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 chimiques initialement mélangées à l'égard de deux *phases*, l'une fixe (on dit aussi "stationnaire"), l'autre mobile.

Explication :

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 similaire 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 constituaient le mélange initialement déposé (voir plus bas pour la méthode d'identification)

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") de poudre très fine sur une plaque rigide (en aluminium, ou en matière plastique).

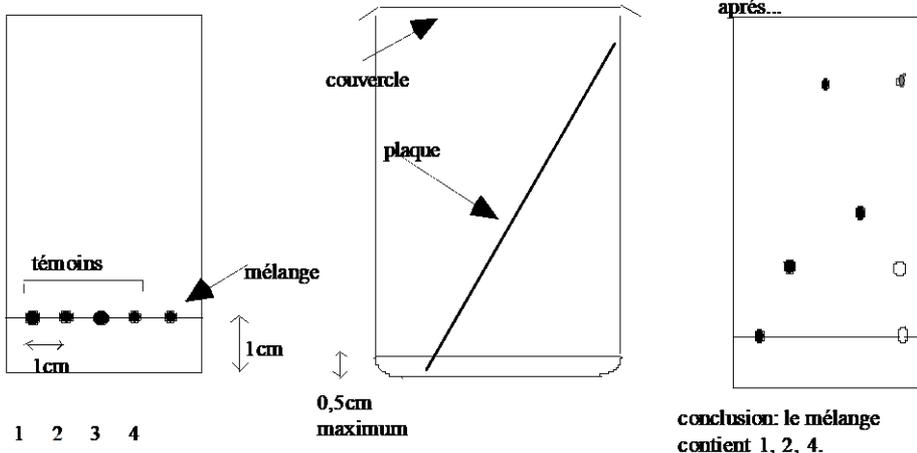
MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Sur cette plaque, on trace, au crayon à papier, une "ligne de dépôt" sur laquelle on dépose des "microgouttes" des différents mélanges ou espèces de référence à étudier (liquides ou solides dissous dans un solvant qui s'évaporera quelques secondes après le dépôt). 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 pour terminer à une révélation du chromatogramme, c'est à dire procéder de telle sorte que l'emplacement de chaque espèce éluee devienne une tache visible

ORDRE DES OPÉRATIONS

- Verser l'éluant 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 inférieur)
- Faire les dépôts sans trembler (espèces étudiées et références, séparées d'au moins 1,5 cm sur la ligne de dépôt). Tous les dépôts doivent être de petite taille (2 mm de diamètre maximum) et tous identiques...
- Sécher. (afin d'évaporer le solvant qui a servi aux dépôts).
- Si les dépôts sont incolore et si la révélation se fait sous lampe UV, vérifier la qualité de vos dépôts avant de lancer l'élution.
- Déposer délicatement la plaque dans la cuve. La montée de l'éluant doit être d'entrée visible sous la forme d'un front horizontal.
- Laisser le front de l'éluant progresser.
- Quand le front de l'éluant est arrivé à peu près en haut (environ à 1 cm du bord supérieur), retirer la plaque et la sécher. Noter tout de suite au crayon la ligne du front d'éluant (avant que celui-ci ne s'évapore)
- Révéler... (différentes techniques possibles...)
- Observer et interpréter le chromatogramme, conclure.



Je fais S & L, je lis ce qui suit...

Je ne fais pas S & L, il n'est pas interdit de lire ce qui suit...

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**). Nous verrons en classe de 1^{ère} quels types d'interactions inter-moléculaires sont à l'origine de ces affinités (Une brève présentation à ce sujet sera toutefois proposée). Nous pouvons donc déjà, connaissant les formules développées des molécules étudiées, repérer une particularité (le plus souvent la **polarité** de la **chaîne** ou du **groupe caractéristique**) 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).

Nous utiliserons 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 au lycée est la silice. C'est un **adsorbant** assez **actif** (qui retient assez fortement les molécules polaires). Nous pouvons toutefois être amenés à utiliser des plaques d'alumine et de cellulose.

TROUVER RAISONNABLEMENT LE MEILLEUR ÉLUANT

Bien entendu, il ne faut pas le choisir au hasard. Nous procédons par exemple à deux premiers essais avec deux solvants très différents, l'un très polaire, l'autre très apolaire. Nous recommençons en utilisant des solvants moins extrêmes dans la série éluotropique (voir annexe), etc... Très vite, nous constatons la nécessité, l'avantage d'utiliser un mélange de solvants dont l'un serait plutôt polaire et l'autre plutôt apolaire 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*).

La plupart du temps, l'éluant est donc un mélange de solvants qui se ressemblent, et nous réussissons ainsi à séparer des substances qui à priori semblaient assez ressemblantes et donc difficile à séparer (ex.: différencier des acides aminés).

RÉVÉLATION

Nous savons 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 (notre principale technique au lycée)

Si un indicateur fluorescent est incorporé à l'adsorbant, 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 chimiques courants (qui réagissent chimiquement là où une espèce se trouve pour donner, par exemple, une couleur) :

Le diiode 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, le tout est placé dans une sorbonne ventilée...Les vapeurs d'iode s'accrochent aux taches et les révèlent.

La ninhydrine : non proposée en lycée général (sécurité), souvent utilisée pour la révélation d'acides aminés.

Annexes

Série éluotropique :

Plus nous avançons 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) .*

Attention : certains de ces solvants présentent de tels risques que nous en interdisons l'usage à des lycéens.

Polarité croissante des principaux groupes fonctionnels :

R-H	R-X	R-NO ₂	(R-O-R, RCOOR', RCOR', RCH=O)	RCONHR'
RNH ₂	ROH	H ₂ O	ArOH	RCOOH