

CHROMATOGRAPHIE : COUCHE MINCE ET COLONNE

I. DEFINITIONS ET PRINCIPE

1. Définitions

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une fixe et l'autre mobile. La phase mobile entraîne avec elle les substituants les plus solubles ou les moins adsorbés sur la phase fixe.

2. Nature des phases

2.A. PHASE SOLIDE

Dans les techniques étudiées ici, **la phase fixe est solide**, aux propriétés adsorbantes. On peut utiliser différents produits, aux propriétés adsorbantes différentes :

Exemples : Papier, cellulose

Kieselgur
Talc
Oxyde de magnésium
Gel de Silice
Alumine
Charbon activé

Force d'interaction croissante
avec les composés polaires
↔ « activité » croissante

Certains adsorbants sont neutres, d'autres sont acides ou alcalins. Ces propriétés sont très importantes dans le choix de l'adsorbant : Un adsorbant acide fixant très fortement les composés basiques et inversement.

2.B. PHASE LIQUIDE

En chromat. couches minces ou colonne **la phase mobile est liquide** : elle est nommée **éluant**

Exemples : Ether de pétrole

Cyclohexane
Tétrachlorométhane
Toluène
Dichlorométhane
Ether diéthylique
Trichlorométhane
Propanone
Ethanol
Méthanol
Eau
Acide éthanoïque

« Pouvoir éluant » croissant

Remarque : • L'ordre des pouvoirs éluants des solvants et des activités des adsorbants est donnée à titre indicatif et peut légèrement varier selon la nature des substances à analyser.

• Des mélanges d'éluants peuvent être envisagés, aux propriétés intermédiaires, ce qui permet un travail fin et précis dans les séparations délicates.

3. Interactions entre le composé à analyser et les deux phases

Ces interactions constituent le facteur principal qui détermine l'efficacité de la séparation. La vitesse avec laquelle les solutés se déplacent dépend de deux forces : Les forces d'attraction de l'adsorbant sur les solutés et les forces d'entraînement de l'éluant qui tendent à les extraire.

C'est la **polarité** qui détermine principalement la **force des interactions avec le solide**, d'autant plus grandes que la polarité est forte :

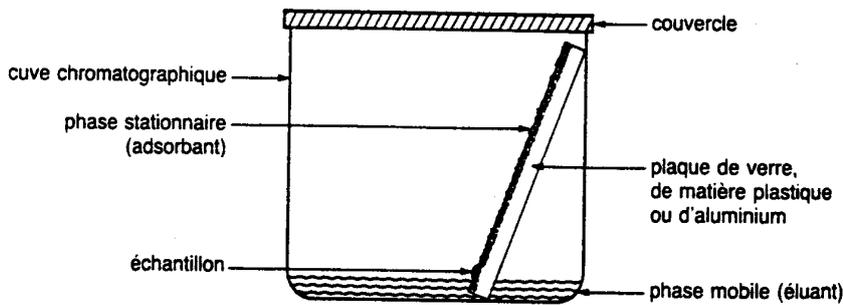
R-H	R-X	R-NO ₂	ROR	RCONHR	RNH ₂	ROH	H ₂ O	ArOH	RCOOH
			RCOOR		R ₂ NH				
			RCOR		R ₃ N				
			RCHO						
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> ← → </div> <p style="margin-top: 5px;">Polarité croissante</p>									

Ce sont la **force de dissolution** et le **phénomène de déplacement** qui expliquent la **force d'entraînement** par le solvant : la stabilisation par la solvataion du soluté doit être supérieure à son adsorption pour un entraînement efficace ou (et) le solvant peut s'adsorber sur les mêmes sites que le soluté sur le solide. Le solvant déplace ainsi le soluté.

La dissolution « tire » le soluté tandis que l'adsorption du solvant « pousse » le soluté.

II. MISE EN OEUVRE EXPERIMENTALE

1. Chromatographie couche mince (CCM)



L'échantillon (environ un microlitre de solution diluée (2 à 5%) à analyser) est déposé grâce à une micropipette en un point (2mm de diamètre MAXIMUM) au dessus de la surface de l'éluant qui monte par capillarité.

Le niveau initial de dépôt comme le niveau final de l'éluant sont marqués au crayon de papier.

La cuve est fermée par un couvercle étanche. L'éluant monte par capillarité. La chromatographie est arbitrairement interrompue à la hauteur choisie.

La plaque de chromatographie est alors extraite, séchée et révélée.

La **révélation** est nécessaire lorsque les substances analysées sont incolores. Plusieurs solutions sont envisageables :

- Vaporisation d'un réactif qui rend la substance visible (avec ou sans chauffage)
- Exposition à un rayonnement UV (après ou non une vaporisation)
- Introduction de la plaque de chromatographie dans une « cuve à iode » cad en atmosphère de I₂ gazeux en équilibre avec des cristaux. I₂ gazeux réagit avec certaines substances pour donner un produit coloré.

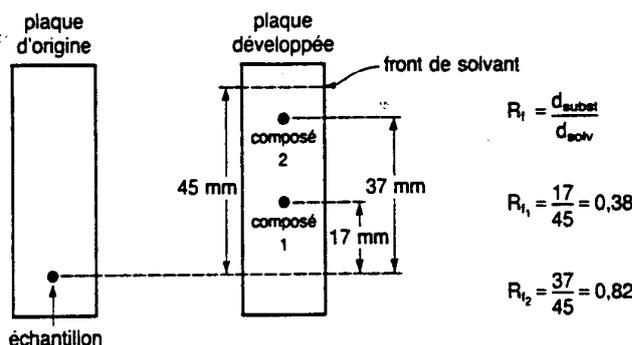
Analyse

Dans des conditions déterminées telles que :-Système de solvant

- Nature de l'adsorbant
- Epaisseur de la couche
- Qté d'échantillon déposé

le rapport de la distance parcourue par la substance mesurée au centre de la tache, à la distance parcourue par le front de solvant, est une **constante noté R_f**, en anglais pour *Retarding Factor*, en français adapté pour *Rapport frontal*. Tout le monde parle du R_f d'une substance.

Exemple :



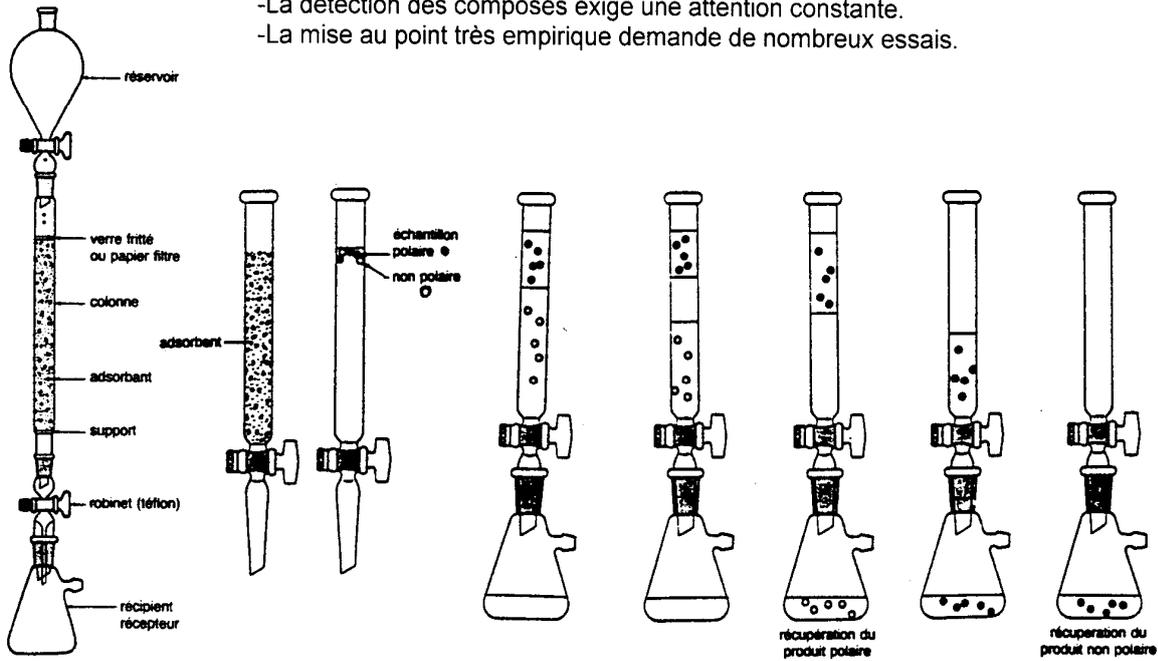
Les R_f d'un grand nombre de substances sont répertoriés dans des tables. La mesure d'un R_f obtenu à partir d'un échantillon mélange permet de caractériser les constituants du mélange à partir des tables.

Si on ne dispose pas des R_f des constituants supposés d'un mélange on dépose alors à côté de l'échantillon mélange des échantillons des produits purs supposés présents et on compare.

2.Chromatographie colonne

La CC peut être une méthode préparative contrairement à la CCM qui ne peut qu'être une méthode d'analyse. Elle permet en effet non seulement la séparation mais aussi l'isolement des constituants du mélange, obtenus très purs. Elle présente toutefois plusieurs inconvénients :

- Grandes quantités de solvants
- Durée d'éluion longue à très longue !
- La détection des composés exige une attention constante.
- La mise au point très empirique demande de nombreux essais.



Obtenir une bonne séparation est souvent plus difficile en CC qu'en CCM.

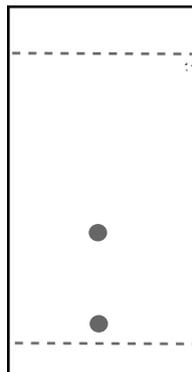
Recherche des conditions expérimentales :

Des essais sont réalisés en couche mince pour déterminer la complexité du mélange à analyser et la nature des solvants à employer. Les résultats obtenus en CCM sont en général transposables en CC sachant que :

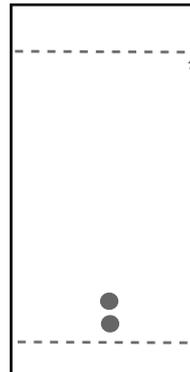
- les solvants doivent être de polarité assez différente ; l'éluion commencera par le solvant le moins éluant et on accroitra progressivement la proportion du solvant le plus éluant.
- Les R_f de la plupart des composants doit être inférieur à 0,40 (sauf éventuellement un) car sinon ils sont entraînés avec une trop faible qtté de solvant et ne sont pas séparés.



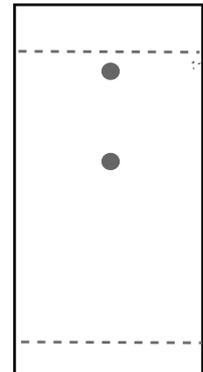
Monde parfait, rare
OUI



$R_f < 0,4$, bonne
séparation
OUI



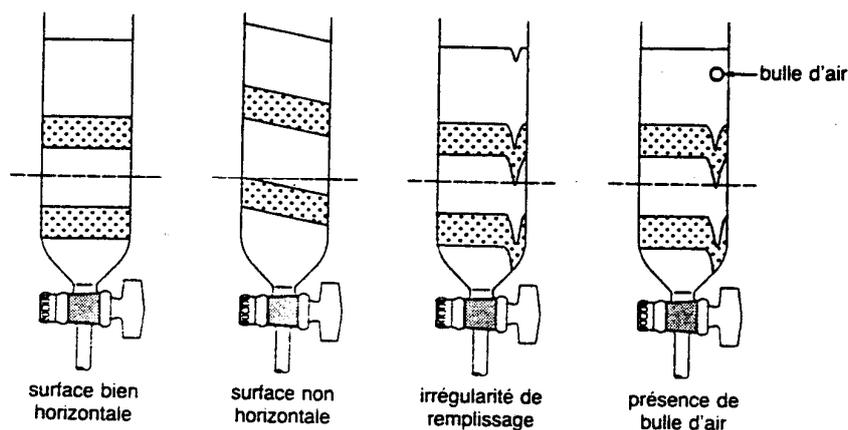
séparation insuffisante
NON



bonne séparation,
Mais R_f trop grands
NON

Remplissage de la colonne :

Celui ci doit être le plus homogène possible :



La colonne est remplie à partir d'une bouillie de l'adsorbant dans le moins polaire des éluants à l'aide d'un entonnoir. On frappe doucement les parois de la colonne pour un tassement maximum et régulier. On ajuste le niveau de solvant juste au dessus de celui de l'adsorbant.

Un échantillon concentré du produit est alors placé en un disque régulier au sommet de la colonne.

Déroulement de l'élution

On verse l'éluant à l'aide d'une ampoule de coulée disposée au dessus de la colonne. L'alimentation régulière est obtenue en fermant l'ampoule et en laissant le robinet ouvert. Dès que le bas de l'ampoule de coulée revient à l'air libre une bulle d'air remonte dans l'ampoule et permet à nouveau l'écoulement de l'éluant. Régler l'ouverture des robinets de telle sorte que le débit soit de 5 à 50 gouttes par minute.

L'adsorbant dans la colonne doit toujours être recouvert de solvant.

Si les produits obtenus sont colorés il est facile d'en repérer les fractions et de les recueillir facilement. Si les produits sont incolores, recueillir des fractions de volume constant que l'on analyse.

L'évaporation du solvant permet d'obtenir les composants purs.