

Chromatographies d'adsorption

Manon LECONTE - ENS de Lyon

Dernière mise à jour : 3 juillet 2020

Merci à Joachim Galiana pour sa précieuse aide.

Mots-clés : chromatographie d'adsorption, chromatographie analytique, CCM, phase stationnaire, éluant, série éluotrope, chromatographie préparative, colonne de chromatographie.

Niveau : L1

Pré-requis :

- Pratique expérimentale de la CCM [secondaire]
- Polarité, proticité [L1]
- Interactions de faible énergie (interactions de van der Waals, liaisons hydrogène) [L1]
- Absorption et émission [TS]
- Oxydoréduction [1S]
- Gestes expérimentaux (filtration, évaporation d'un solvant) [secondaire-L1]

Bibliographie :

- Définitions IUPAC de chromatographie (*chromatography*) et chromatographie d'adsorption (*adsorption chromatography*) [Niveau : **]
- Bernard, *Techniques expérimentales en chimie*, fiches n° 22 et n° 26 [Niveau : **]
- *Physique-Chimie 2^{de}*, Lelivrescolaire [Niveau : *]

Plan proposé

| | |
|---|----------|
| I - Chromatographie analytique | 1 |
| A/ Etude de la phase stationnaire | 2 |
| B/ Choix de l'éluant | 2 |
| C/ Révélation de la plaque | 3 |
| II - Chromatographie préparative | 4 |
| A/ CCM préparative | 4 |
| B/ Colonne de chromatographie | 4 |

Introduction pédagogique

La chromatographie sur couche mince (CCM) a déjà été présentée au lycée dans le cadre des travaux pratiques. Ce cours a pour but de rationaliser davantage l'étude des méthodes de chromatographie d'adsorption. Il est à mi-chemin entre le cours magistral et les travaux pratiques. Le but est de donner aux élèves les outils pour comprendre ce qu'il se passe sur une plaque de CCM ou dans une colonne de chromatographie, afin qu'ils puissent réagir et prendre des initiatives en TP (choix de l'éluant, prévision de l'ordre d'élution, ...). Ce cours est donc placé en début d'année de L1.

Difficultés :

- justifier de l'ordre d'élution dans un mélange et de l'influence d'un solvant sur l'élution d'un composé ;
- faire la différence entre chromatographie préparative et chromatographie analytique.

Exemples de TP : séparation des pigments de l'épinard sur colonne de chromatographie.

Introduction

Pour déterminer si une synthèse organique est finie, on a besoin de méthodes analytiques pour déterminer si les réactifs sont encore présents dans le milieu réactionnel. En outre, si l'on se rend compte que le brut de la synthèse que l'on vient d'effectuer présente de nombreuses impuretés, on peut chercher un moyen pour n'isoler que le produit d'intérêt.

Il existe plusieurs moyens en chimie expérimental pour obtenir cela, mais la chromatographie d'adsorption reste une méthode de choix car elle est généralement rapide à mettre en œuvre et peu coûteuse.

Définition – Chromatographie : méthode de séparation de composés chimiques qui sont distribués entre deux phases : une **phase stationnaire** et une **phase mobile**.

La **chromatographie d'adsorption** repose sur la compétition entre l'adsorption des composés à la surface de la phase stationnaire et la solubilisation dans la phase mobile.

Objectifs – Prévoir l'ordre d'élution de différents composés sur une CCM.
Choisir un solvant d'élution pour une CCM ou une colonne de chromatographie.

I - Chromatographie analytique

Dans cette partie, on se focalise sur la chromatographie sur couche mince (CCM). Le but est de déterminer comment des composés d'un mélange sont différemment séparés sur la plaque et comment les reconnaître.

A/ Etude de la phase stationnaire

La phase stationnaire d'une CCM est un gel déposé sur une plaque rectangulaire en aluminium. Il peut s'agir de silice (la plupart du temps), mais aussi d'alumine ou de cellulose. La particularité de ce support est qu'il peut générer un grand nombre d'interactions avec les composés à séparer et avec la phase mobile.

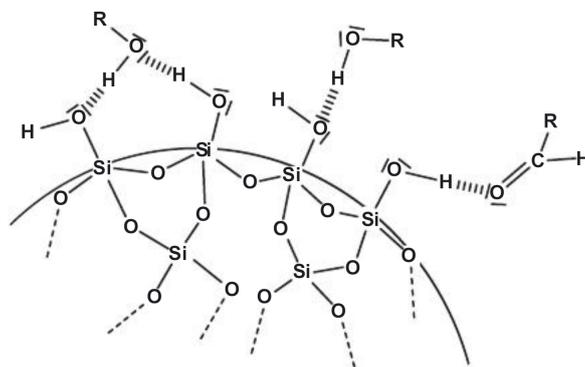


Figure 1 – Interactions entre une phase stationnaire de silice et diverses molécules (Source : Bernard (p. 128)).

La silice est un composé polaire et protique. Elle peut donc engager des interactions de van der Waals et des liaisons hydrogène avec les composés à séparer. Ainsi, un composé aura d'autant plus d'affinité avec la silice qu'il sera polaire et protique (ici, l'alcool et l'eau sont plus retenus que l'aldéhyde).

Néanmoins, elle est également acide. Ainsi, on peut difficilement séparer des composés basiques (par exemple des amines) sur cette phase stationnaire car il se forme des liaisons covalentes entre la silice et le substrat. Dans ce cas, on utilise plutôt une phase stationnaire en alumine Al_2O_3 qui peut être neutre.

B/ Choix de l'éluant

Dans une méthode de chromatographie d'adsorption, il y a compétition entre l'adsorption de l'échantillon à séparer sur la phase stationnaire et leur solubilisation dans la phase mobile appelée **éluant**. L'éluant peut être plus ou moins polaire et protique ou aprotique. Cela signifie que les composés à séparer sont plus ou moins solubles dans cet éluant. On peut ainsi établir une **série éluotropique**, qui classe les solvants en fonction de leur polarité puis de leur proticité :

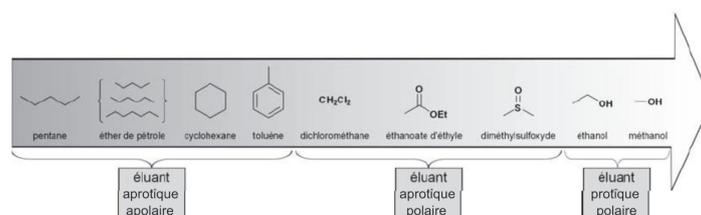


Figure 2 – Série éluotropique (Source : Bernard (p. 128)).

La plaque de CCM est placée verticalement dans une cuve où trempe l'éluant. Ce dernier migre peu à peu sur la plaque par capillarité en entraînant les composés.

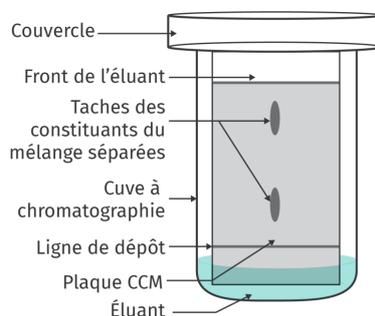


Figure 3 – Schéma d'une cuve de CCM (Source : Lelivrescolaire (p. 23)).

Pour un même composé, il migre d'autant plus que l'éluant est polaire et protique car il y a une plus grande compétition entre l'éluant et la phase stationnaire.

Pour un même éluant, un composé est d'autant plus retenu qu'il est polaire et protique car les interactions avec la phase stationnaire seront très importantes.

C/ Révélation de la plaque

La CCM est une chromatographie analytique car elle permet d'identifier des composés en fonction de leur élution. Si les composés sont colorés, la révélation se fait directement, à l'œil nu. Cependant, les produits chimiques sont rarement colorés. On utilise donc des méthodes physiques ou chimiques pour les révéler :

- **révélation UV** : certains composés possédant des doubles liaisons conjuguées peuvent absorber dans l'UV. Or, les phases stationnaires sont recouvertes d'un colorant fluorescent qui émet de la lumière verte lorsqu'il est exposé à une radiation de 254 nm. Ainsi, à l'endroit où il y a un composé qui absorbe dans l'UV, on observe une tache violette car la phase stationnaire ne peut fluorescer ;
- **révélation au permanganate de potassium** : le permanganate de potassium est un puissant oxydant. Il peut donc oxyder un grand nombre de molécules organiques et se réduire par la même occasion en dioxyde de manganèse MnO_2 . Si $KMnO_4$ est une solution violette intense, MnO_2 est un oxyde jaune-marron. Ainsi, en faisant sécher une plaque de CCM qui a préalablement trempé dans une solution de $KMnO_4$, on observe des taches jaune-marron au niveau des composés.

Il existe bien d'autres techniques de révélation. Celles qui viennent d'être présentées sont les plus courantes.

Pour déterminer à quel composé correspond quelle tache, on peut comparer les éluations du brut réactionnel avec des composés commerciaux purs (réactifs de la synthèse, produit attendu). On peut également mesurer le **rapport frontal** qui est le rapport entre la distance d'élution du composé et la distance parcourue par le front de solvant. Ces rapports sont spécifiques à chaque composé et dépendent des phases stationnaire et mobile utilisées. Elles peuvent donc être tabulées dans un ouvrage de manipulations.

II - Chromatographie préparative

La chromatographie est une méthode de séparation. On peut donc l'utiliser pour purifier un brut réactionnel pour isoler le composé d'intérêt. On parle alors de **chromatographie préparative**.

A/ CCM préparative

Il est tout à fait possible d'utiliser la CCM pour isoler un composé d'intérêt. Il suffit pour cela de gratter la silice au niveau de la tache de ce composé. La poudre obtenue est placée dans un solvant pour lequel le composé d'intérêt a beaucoup d'affinité. La silice reste insoluble et peut donc être filtrée. Il suffit ensuite d'évaporer le solvant pour récupérer le produit de la synthèse.

Cette méthode n'est néanmoins pas très courante car elle ne permet de récupérer qu'une petite quantité de produit (un dépôt sur CCM est très peu concentré). Pour purifier tout le brut réactionnel, on utilise un dispositif de chromatographie à plus grande échelle : la colonne de chromatographie.

B/ Colonne de chromatographie

La colonne de chromatographie est remplie d'un gel (de silice ou d'alumine) qui tient lieu de phase stationnaire. Les interactions mises en jeu sont en tout point semblables à celles présentes en CCM. La seule différence tient dans le fait que l'éluant migre du haut vers le bas de la colonne, par gravité et poussé par de l'air comprimé.

Avant de réaliser une colonne de chromatographie il est indispensable de faire une **CCM préparatoire** afin de déterminer le bon éluant pour que les composés soient bien séparés.

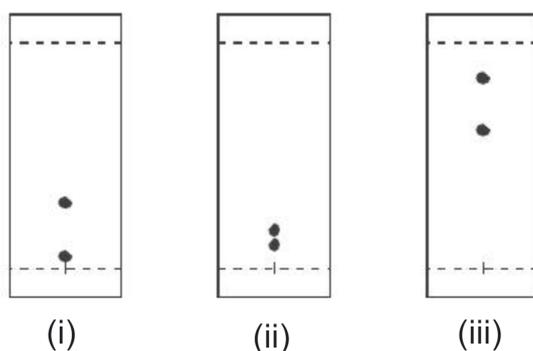


Figure 4 – Elution d'un mélange de deux composés par trois solvants différents (Source : Bernard (p. 150)).

Sur la figure 4, on voit que le solvant (ii) ne permet pas une bonne séparation des composés du mélange : ils risquent d'éluer au même moment. De plus, l'élution dans la colonne risque d'être très longue. Le solvant (iii) semble bien séparer les composés, mais il y a un risque qu'ils éluent trop vite. La séparation peut donc ne pas être optimale.

Le meilleur compromis est le solvant (i) qui permet de bien séparer les composés. On pourra retenir qu'un rapport frontal optimal est situé entre 0,2 et 0,4.

On peut ensuite éluer l'échantillon sur la colonne. Pour cela, on ajoute de l'éluant en tête de colonne, que l'on pousse au moyen d'une arrivée d'air comprimé. On recueille alors des fractions de quelques millilitres que l'on analyse par CCM. Une fois que le produit d'intérêt a totalement été élué (on n'observe plus sa tache caractéristique en CCM), on peut arrêter la colonne. Il suffit alors de recombinaison les fractions dont la CCM ne présente que la tache correspondant au produit et d'évaporer le solvant.

Remarque – Cette technique est également utilisable pour récupérer les différents produits présents dans l'échantillon. Dans ce cas, on peut faire varier l'éluant une fois que le premier produit n'est plus dans la colonne pour récupérer le second (colonne à gradient de polarité).

Conclusion

La chromatographie d'adsorption permet d'analyser le contenu d'un mélange, faire un suivi cinétique d'une synthèse organique, mais aussi purifier un brut réactionnel.

On retient qu'un même composé migre d'autant plus que l'éluant (la phase mobile) est polaire ; et que pour un même éluant, les composés sont d'autant plus retenus par la phase stationnaires qu'ils sont polaires et protiques. On peut ainsi faire des essais en TP pour déterminer le meilleur éluant, de sorte à ce que le composé d'intérêt migre à un rapport frontal compris entre 0,2 et 0,3.