

LC7 : Méthodes de séparation en chimie

Titre : Chromatographies

Élément imposé : Chromatographie sur couche mince

Niveau : L1 (BTS métiers de la chimie)

Prérequis :

- Propriété des solvants : moment dipolaire, caractère protogène (L1)
- Interprétation de la solubilité de solutés et de miscibilité de solvants (L1)
- Première approche de la chromatographie sur couche mince (Secondaire)

Difficultés :

-

Séquence pédagogique

- TP Tosylation du citronellol, séparation citronellol et citronellol tosylé

Biblio :

- Skoog
- Rouessard
- Techniques de manip PC

Objectif : Mettre en oeuvre une séparation sur colonne de chromatographie à l'aide de raisonnements qualitatifs et éventuellement de CCM préalables.

Introduction

Les colorants alimentaires ne sont pas toujours des corps purs : on peut observer leur pureté et comparer leurs composants à l'aide de chromatographie sur couche mince.

1 Vocabulaire

Chromatographie : Technique de séparation de constituants d'un mélange entraînés par une **phase mobile** à travers une **phase stationnaire**. La séparation résulte de la différence de temps de stationnement dans la phase stationnaire.

Deux types de chromatographie :

- Chromatographie planaire : phase stationnaire supportée par une plaque. La phase mobile se déplace à travers la phase stationnaire par capillarité ou par gravité.
- Chromatographie sur colonne : phase stationnaire maintenue dans un tube étroit et la phase mobile évolue par gravité

Description de chromatographies : Nature de la phase stationnaire et type d'équilibre entre les phase
Aujourd'hui, on va essayer de mettre en place une technique de séparation des pigments des épinards.

2 Retour sur la chromatographie sur couche mince (CCM)

Puisque c'est quelque chose que vous avez déjà fait

2.1 Principe

La chromatographie sur couche mince est une **chromatographie d'adsorption** : les composés s'adsorbent et se désorbent à la surface de la phase stationnaire. La phase stationnaire est une couche mince solide déposée sur un support inerte en verre ou en aluminium. La phase mobile liquide est appelée éluant et se déplace par capillarité sur la plaque.

Ici, les interactions reposent sur les interactions faibles de Van der Waals et les liaisons hydrogènes

2.2 Montage expérimental

On dépose les composés à l'aide de capillaires sur une ligne parallèle au bas de la plaque. On place alors la plaque dans une cuve contenant l'éluant et un papier filtre afin d'avoir une atmosphère saturée dans la cuve. On referme la cuve immédiatement et on laisse la plaque se développer. On interrompt la migration quand le front de l'éluant a parcouru les 2/3 de la plaque et on marque le front de l'éluant.

On interprète la CCM à l'aide du **rapport frontal** $R_f = \frac{d}{D}$

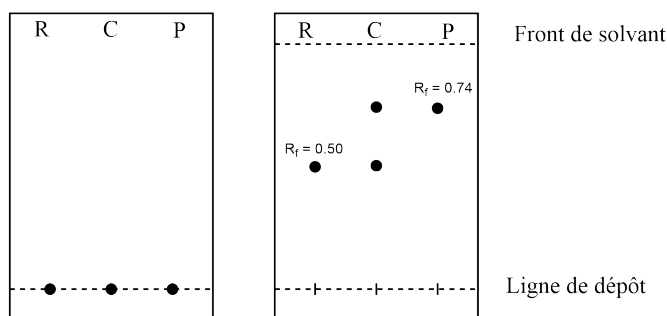


Figure 1: Dépôt et développement d'une CCM

2.3 Choix de l'éluant et du support

Phase stationnaire = adsorbant

- Silice représente 80% des phases stationnaires utilisées. Recouverte de groupes silanols polaires et protiques. Inconvénient : la silice peut être endommagée à haut ou bas pH.
- Alumine Al_2O_3 polaire mais pas forcément acide
- Cellulose microcristalline

On choisit ici la silice car elle est plus facilement accessible et on se placera à des conditions de pH neutre

Phase mobile = éluant

Mode de migration suivant le substrat (technique p.113) Pour avoir une bonne séparation, on peut essayer un solvant purement apolaire : carotène solubilisé mais chlorophylle reste collée à la plaque. Pratique : sur éther de pétrole, $r_f = 100$ et 0.

Mais si on veut éluer seulement la chlorophylle, 70:30 éther de pétrole : acétate d'éthyle donne $r_f = 0$ pour carotène (éluant pas assez polaire pour pousser) et 70 pour chlorophylle. (xanthophylles avec r_f de 100 (jaune))

2.4 Révélation

- Révélation UV à 254 nm La phase stationnaire contient un indicateur fluorescent (souvent le silicate d'aluminium) qui absorbe dans l'UV à 254 nm (lampe à vapeur de mercure avec un filtre). Les composés qui absorbent à cette longueur d'onde apparaissent alors comme une tache sombre qui ne fluoresce pas.

- Révélation avec des indicateurs chimiques : permanganate de potassium, acide phosphomolybdique, diiode.
Ex : permanganate violet oxydant très fort, oxyde les composés dur la plaque donc MnO_2 marron

Ici, nos composés sont-ils conjugués ? visibles ? oxydables ?

Méthode analytique car elle permet de caractériser les produits par leurs R_f

Transition : Mais comment fait-on si l'on veut récupérer les espèces éluées pour les analyser ?

3 Méthode préparative : chromatographie sur colonne

Préparative veut dire qu'on récupère les espèces purifiées.

3.1 Principe

Chromatographie d'adsorption également. Phase stationnaire est un gel de silice ou d'alumine. Phase mobile est l'éluant qui évolue par gravité. On récupère alors les fractions en fin de colonne.

3.2 Montage expérimental

diapo

3.3 Choix des conditions opératoires

Chromatogramme : la plaque de silice nous donne une photo à t fixé de l'élution dans la colonne, nous on veut le temps de sortie (=temps de rétention) du composé à une position fixée : bout de colonne z . On tourne alors la plaque de CCM.

On regarde lors les r_f et on choisit l'éluant qui donne des r_f suffisamment grands (diminution du temps d'élution) avec une séparation de r_f suffisant. Avantage de la colonne : on peut faire des gradients de solvants. Ici, éther pur puis éther et acétate.

Conclusion

On a donc vu comment en utilisant des CCM on peut non seulement évaluer la pureté du produit mais aussi mettre en place des techniques de séparations de composés très proches.

Ouverture : Chromatographie par échange d'ions et en phase gaz Pb : interactions trop fortes (électrostatiques) et non spécifique

Questions

-