

Chromatographie

I. Principe

La chromatographie est une méthode de **séparation** dont dispose le chimiste pour **isoler** un composant, **purifier** un produit brut de synthèse ou pour **analyser** un mélange.

Les méthodes chromatographiques sont classées selon la nature des interactions physico-chimiques. La chromatographie sur colonne et la chromatographie sur couche mince sont deux types de **chromatographie d'adsorption** : la séparation est fondée sur un processus d'adsorption / désorption des molécules sur la phase stationnaire.

Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une technique physico-chimique utilisée pour analyser la composition d'un mélange, pour suivre l'évolution d'une réaction chimique, pour préparer la composition d'un éluant avant de réaliser une chromatographie sur colonne.

La CCM est une technique qui repose sur la différence d'**affinité** des substances à analyser vis à vis d'une phase **stationnaire** et d'une phase **mobile**.

- La phase stationnaire est constituée d'alumine ou de silice étalées en couche mince sur une plaque d'aluminium. Ces solides ont des propriétés adsorbantes : ils forment des interactions de Van der Waals et parfois des liaisons hydrogène avec les molécules éluées.
- La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants appelée **éluant**.

Lorsque l'échantillon a été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent par **capillarité** à une vitesse qui dépend des interactions qu'elles créent avec la phase mobile et la phase stationnaire.

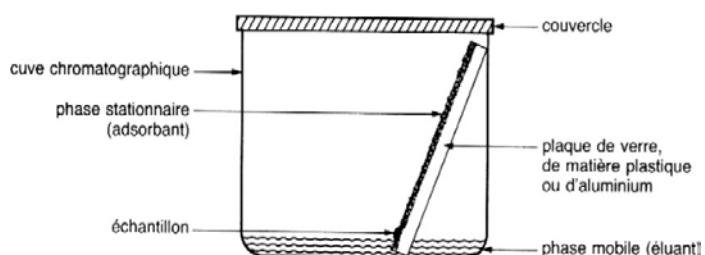
II. Aspects expérimentaux

1. Dépôt de l'échantillon

- Tracer un trait fin au crayon à 1 cm du bord de la plaque.
- Dans un tube à hémolyse, dissoudre une pointe de spatule ou une goutte de liquide à analyser dans un solvant.
- Remplir un tube capillaire de l'échantillon par capillarité.
- Essuyer la pointe du tube sur du papier absorbant.
- Déposer l'échantillon en appuyant brièvement l'extrémité du capillaire sur la plaque.
- Sécher la plaque au sèche-cheveux et recommencer le dépôt afin de concentrer la tâche en produit.

2. Elution

- L'éluant est ajouté dans la cuve plus d'une heure avant son utilisation afin de saturer son atmosphère.
- La plaque est disposée en position verticale (le niveau de l'éluant est en dessous de la ligne de base). Pendant l'éluion, la cuve est fermée et demeure immobile.
- Lorsque le front de l'éluant arrive à environ 1 cm du haut de la plaque, un trait fin repère ce niveau, puis la plaque est retirée et séchée au sèche-cheveux.



3. Révélation

Les composés chimiques invisibles à l'œil nu sont révélés. Les tâches sont ensuite encerclées au crayon à papier.

▫ Révélation UV

Certains composés apparaissent exposés à une radiation UV sous forme de tâches brillantes. Si la plaque contient un indicateur fluorescent, la plaque entière devient fluorescente et les composés y sont révélés sous forme de tâches brunes.

▫ Révélation à la vapeur de diode

La plaque est placée dans une cuve saturée en vapeurs de diode. Le diode réagit avec de nombreuses molécules organiques en formant des composés jaunes ou bruns.

▫ Atomisation

La plaque est pulvérisée sous la hotte avec un réactif :

- le nitrate d'argent révèle les halogénoalcanes par des tâches brunes.
- la DNPH révèle les aldéhydes ou les cétones par des tâches jaunes ou oranges.
- la ninhydrine révèle les acides aminés en violet.

III. La chromatographie sur colonne

1. Principe

La chromatographie sur colonne est une technique préparative mise en œuvre pour isoler un ou plusieurs produits. L'éluant migre par gravité de haut en bas dans la colonne. La CCM est une technique analytique, l'éluant migre de bas en haut par capillarité.

2. Aspects expérimentaux

▫ Préparation de la colonne (de bas en haut) :

- un morceau de coton
- du sable de fontainebleau
- la phase stationnaire mélangée à l'éluant
- du sable de fontainebleau

▫ Elution

L'échantillon analysé est déposé délicatement en haut de la colonne. Lorsqu'il est complètement adsorbé, l'éluant est ensuite ajouté en continue afin que la colonne ne sèche pas. Les fractions éluées sont collectées dans différents tubes à hémolyses, puis analysées par CCM ou par spectroscopie (UV-Visible, IR, RMN)

