

## Chromatographie sur couches minces des acides lichéniques révélables par l'Echtblausalz B (réactif EB)\*

Après plusieurs années de pratique de la chromatographie sur couches minces des acides lichéniques, nous constatons qu'il n'existe pas encore une technique de séparation vraiment efficace pour l'ensemble des acides réagissant au réactif EB de Hess (réaction de diazotation avec les depsides de l'orcinol et du  $\beta$ -orcinol, ainsi qu'avec les depsidones de l'orcinol). Ces acides donnent à peu près tous avec ce réactif une coloration violette plus ou moins nuancée de rouge et ils occupent, sur le plan des  $R_F$ , des positions fort voisines. Tout au plus, peut-on situer sur la plaque chromatographique des groupes d'acides, mais dans de nombreux cas on ne peut décider d'une manière certaine de leur identité respective.

Nous pensons ici aux acides barbatique, divaricatique et diffractaïque en mélange, à la présence simultanée des acides olivétorique, physodique et  $\alpha$  collatolique, à celle des acides lécanorique et gyrophorique, etc. Bien entendu, de tels mélanges ne sont pas nécessairement présents chez les lichens, mais il est souhaitable de chercher une technique qui en permettrait, le cas échéant, une bonne séparation.

Jusqu'à présent nous avons utilisé, en chromatographie sur couches minces, le  $\text{HF}_{254}$  comme adsorbant (suspension dans l'eau) et la phase de Pastuska pour le développement<sup>1</sup>. Nous employons des plaques de  $20 \times 20$  cm et la durée du développement est d'environ 1 h. Après séchage à l'étuve, les plaques sont révélées par le réactif EB de Hess. Jusqu'à ce jour, cette technique nous a donné des résultats acceptables mais nous nous rendons compte qu'elle ne peut assurer avec succès l'examen de certains groupes d'acides lichéniques. L'intérêt majeur de la technique proposée en 1963 réside dans le fait que le  $\text{HF}_{254}$  permet, avec le seul secours des U.V., une localisation parfaite des spots correspondant aux depsides de l'orcinol et du  $\beta$ -orcinol ainsi qu'aux depsidones de l'orcinol.

Etant donné ces constatations, nous nous sommes tourné vers l'utilisation d'autres adsorbants ou des mêmes adsorbants préparés dans d'autres conditions. Ce fut là un travail laborieux, qui nous a donné l'occasion d'élaborer la nouvelle méthode que nous présentons ici. Nous ne considérons pas celle-ci comme idéale, mais nous constatons qu'elle est nettement supérieure à celle que nous proposons en 1963.

### Méthode

Nous utilisons des plaques de  $20 \times 40$  cm sur lesquelles nous coulons, avec un appareil Shandon, une suspension de  $\text{HF}_{254}$  de Merck dans la solution 0.1 ou 0.2 M d'acétate sodique (30 g d'adsorbant pour 65 ml de solution). Après répartition, les plaques sont abandonnées pendant 2 h à la température du laboratoire puis activées pendant 1 h à  $105^\circ$ .

Elles sont ensuite chargées au moyen des extraits puis développées durant 7 à 8 h dans la phase de Pastuska (benzène-dioxane-acide acétique, 90:25:4). Après développement, les plaques sont à nouveau séchées pendant 30 min à  $70-80^\circ$ .

Un premier examen aux U.V. 254 m $\mu$  est suivi d'une aspersion par une solution

---

\* Travaux lichénologiques de l'Institut de Morphologie végétale et de Botanique systématique de l'Université de Liège (Chaire de Cryptogamie), Travail No. 27; Recherches subventionnées par le Centre interuniversitaire de Chimie organique.

aqueuse du réactif EB de Hess, lui-même suivi d'une aspersion par une solution 0.1 N de NaOH ou une aspersion au réactif EBB. Après quelque temps les colorations apparaissent et la lecture de la plaque peut s'effectuer.

Révéléateur EB: solution aqueuse à 0.5 % d'Echtblausalz B (sel de bleu solide B).

Révéléateur EBB: solution méthanolique à 0.1 % d'Echtblausalz BB. Après aspersion des plaques, séjour 10 à 20 min en étuve portée à 80–90°.

Ces deux révéléateurs sont des sels de diazonium stables.

### Résultats et discussion

Les trois chromatogrammes synthétisent les principaux résultats obtenus.

Sur le premier (Fig. 1), nous avons chromatographié isolément des substances de référence. Celles-ci se séparent très nettement les unes des autres. Pour les acides lobarique et lécanorique, les acides divaricatique et diffractaïque, on constate cependant que ces substances ont des  $R_F$  très voisins et qu'en mélange, elles seraient probablement difficiles à distinguer les unes des autres.

Sur le deuxième chromatogramme (Fig. 2), nous avons porté des mélanges d'acides purs et ceux-ci isolément. Nous obtenons une excellente séparation, avec

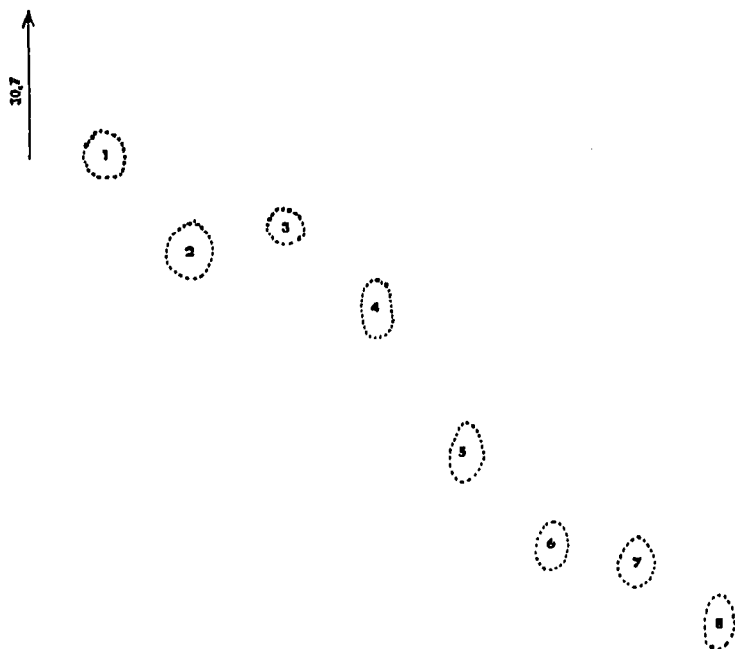


Fig. 1. Chromatogramme de substances de référence. Phase Pastuska-Kieselgel HF<sub>254</sub> en suspension dans solution 0.2 M NaAc. Révéléateur: réactif EB + aspersion avec sol. 0.1 N de NaOH. Développement 6 à 8 h. Front de solvant à 30.7 cm. 1 = Acide barbatique; 2 = acide diffractaïque; 3 = acide divaricatique; 4 = acide  $\alpha$  collatolique; 5 = acide olivétorique; 6 = acide lobarique; 7 = acide lécanorique; 8 = acide gyrophorique.

cependant l'indication qu'il n'est pas possible par la technique proposée de séparer certains mélanges tels que acides physodique–lobarique, acides olivétorique–évernique, acides lécanorique–lobarique.

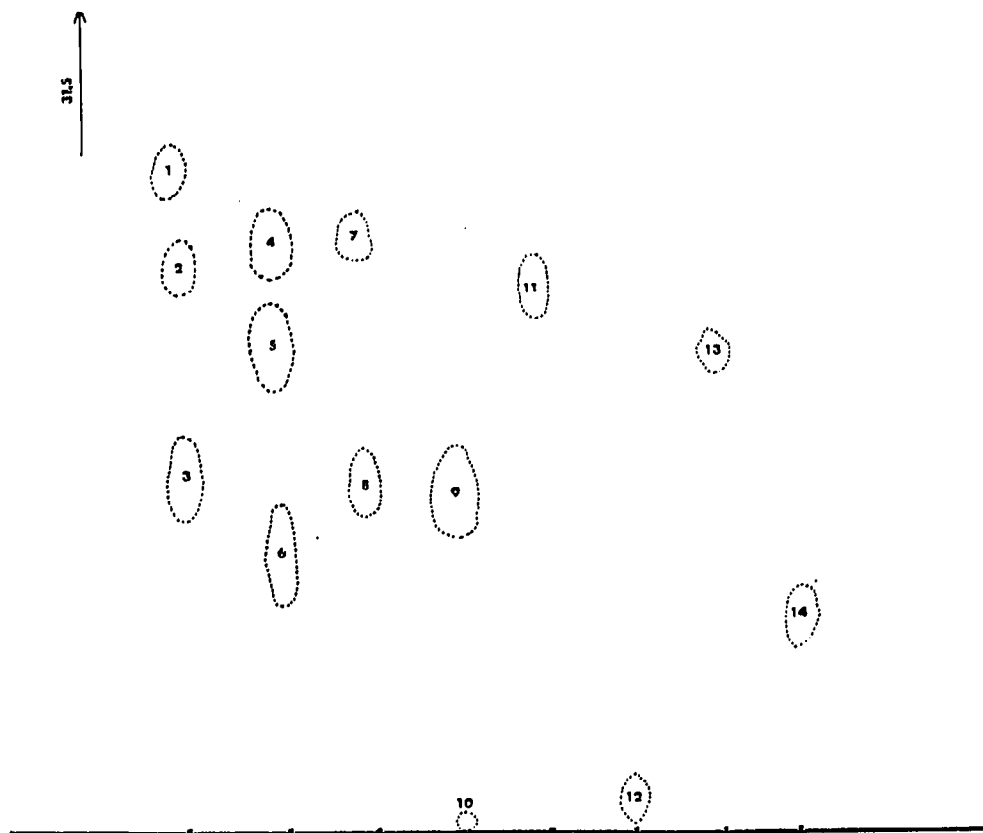


Fig. 2. Chromatogramme de mélanges d'acides purs et de ceux-ci isolés. Mêmes conditions expérimentales que dans le cas de la Fig. 1. Front de solvant à 31.5 cm. 1 = Acide barbatique; 2 = acide  $\alpha$  collatolique; 3 = acide lécanorique; 4 = acide divaricatique; 5 = acide olivétorique; 6 = acide gyrophorique; 7 = acide diffractaïque; 8 = acide lobarique; 9 = acide physodique; 10 = acide thamnolique; 11 = acide imbricarique; 12 = acide squamatique; 13 = acide évernique; 14 = acide alectoronique.

Sur le troisième (Fig. 3), nous avons porté également des mélanges d'acides purs et quelques références isolées, mais nous employons cette fois, pour révéler, le réactif EBB de Hess en solution méthanolique et nous notons les colorations qui apparaissent après passage à l'étuve. Nous constatons que certaines d'entre elles peuvent beaucoup aider à l'identification de certains acides, compte tenu de leur position sur le chromatogramme.

Plus précisément, on obtient les résultats suivants: acides gyrophorique, évernique et  $\alpha$  collatolique: teinte jaune; acides squamatique, diffractaïque et barbatique: pas de coloration; acides lécanorique, olivétorique, lobarique et physodique: teinte brune, plus ou moins accentuée; acide divaricatique: teinte rougeâtre.

Incontestablement, cette nouvelle technique offre de grands avantages par

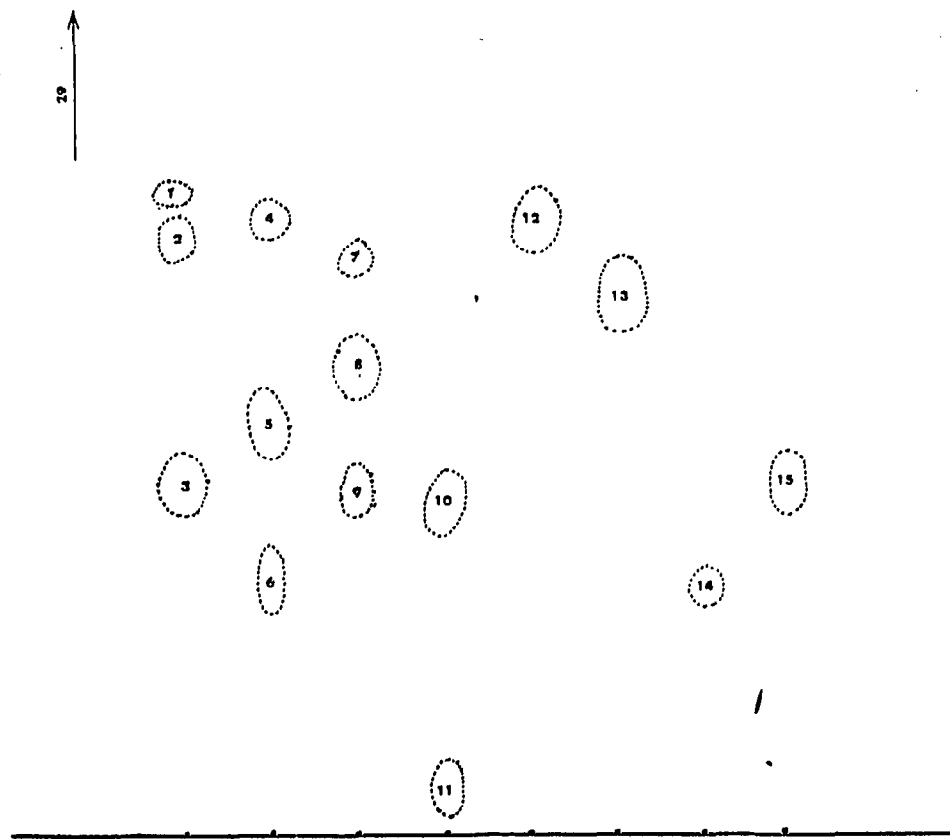


Fig. 3. Chromatogramme de mélanges d'acides purs et de quelques références isolées. Mêmes conditions expérimentales que dans le cas des Fig. 1 et 2, excepté le révélateur composé de réactif EBB en solution méthanolique. Front de solvant à 29 cm. 1 = Acide barbatique; 2 = acide  $\alpha$  collatolique; 3 = acide lécanorique; 4 = acide divaricatique; 5 = acide olivétorique; 6 = acide gyrophorique; 7 = acide diffractaïque; 8 = acide lobarique; 9 = acide évernique; 10 = acide physodique; 11 = acide squamatique; 12 = acide divaricatique; 13 = acide  $\alpha$  collatolique; 14 = extrait de *Stereocaulon alpinum*; 15 = acide évernique.

rapport à la première que nous avons proposée. Si elle ne permet pas encore de résoudre toutes les combinaisons possibles, il faut néanmoins se souvenir que celles que l'on crée artificiellement n'existent pas nécessairement dans les extraits naturels des lichens à étudier.

Departement de Cryptogamie, Université de Liège  
(Belgique)

J. L. RAMAUT

1 J. L. RAMAUT, *Chromatographie sur couche mince des depsides et des depsidones*, Bull. Soc. Chim. Belg., 72 (1963) 316-321.

Reçu le 22 juin, 1967

J. Chromatog., 31 (1967) 243-246