

I. UN PEU D'HISTOIRE

Lorsque plusieurs espèces chimiques sont mélangées, suite à une extraction ou à une synthèse par exemple, il faut d'abord les séparer, puis les identifier. Une des techniques que l'on peut utiliser est la chromatographie, mise au point en 1903 par le botaniste russe Tswett qui cherchait à séparer les pigments colorés de certaines plantes.

II. PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE

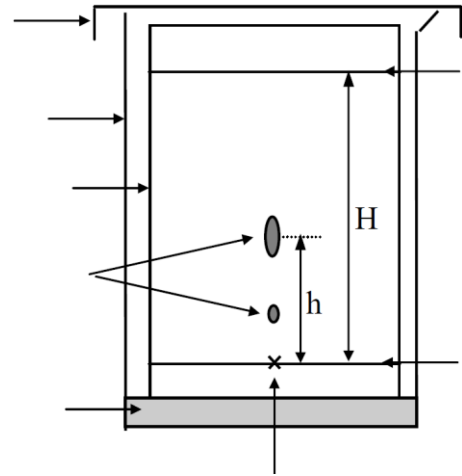
• La chromatographie est une **technique de séparation et d'identification d'espèces chimiques** d'un mélange. Elle est basée sur la différence d'affinité entre deux phases :

- la **phase stationnaire** ou **phase fixe**
- la **phase mobile** ou **éluant**

• Chaque constituant d'un mélange, mis en évidence par une tâche, est caractérisé, sur une phase fixe et un éluant donnés, par un **Rapport frontal**, noté R_f et défini par :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{distance parcourue par l'éluant}} = \frac{h}{H}$$

- Légénder le schéma du montage ci-contre avec les mots : **éluant, plaque CCM, constituants du mélange, dépôt du mélange, ligne de dépôt, ligne front de l'éluant, bécher, couvercle.**



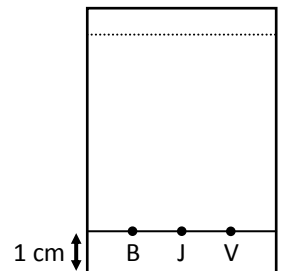
III. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM) - CHROMATOGRAPHIE D'ADSORPTION

a. PRINCIPE

- La chromatographie sur couche mince (CCM) est une **chromatographie d'ADSORPTION** basée sur à la **formation de liaisons momentanées** entre les **espèces chimiques des dépôts** et la **phase fixe**. La façon dont chaque espèce chimique migre dépend de son **adsorption sur la phase fixe** (plaque) et de **sa solubilité dans la phase mobile** (éluant).
- La phase fixe est un solide, la **silice étalée en couche mince** sur une plaque d'aluminium. L'éluant est un liquide qui monte par **capillarité**.
- La séparation est basée sur la **différence de vitesse de déplacement** des espèces chimiques sur la phase fixe.

b. CHROMATOGRAPHIE CCM (À RÉALISER EN MÊME TEMPS QUE CELLE DU IV.b.)

- Verser dans un bécher, 5 mL de l'éluant 1 (éthanol et eau salée à 40 g.L⁻¹).
- Couvrir avec le couvercle en verre et laisser en attente pour que l'intérieur du bécher se sature en vapeur d'éluant.
- Préparer la plaque CCM comme l'indique le schéma : tracer des traits "légers" au crayon pour ne pas abîmer la couche de silice. **Cette ligne ne doit pas être immergée dans l'éluant !**
- Avec une pique en bois légèrement écrasée, faire 3 dépôts :
 - en B, de colorant bleu E 131,
 - en J, de colorant jaune E 102,
 - en V, de colorant vert.
- Placer la plaque CCM dans le bécher et laisser évoluer jusqu'à ce que l'éluant arrive à 1 cm du haut de la plaque. Retirer la plaque et la faire sécher.



c. EXPLOITATION

1. Que fait l'éluant dès que l'on y plonge la plaque CCM ?
2. Que fait l'éluant lorsqu'il entre en contact avec la ligne de dépôt ?
3. Pourquoi la ligne de dépôt doit-elle être placée initialement au-dessus de l'éluant ?
4. Combien de taches observe-t-on pour B ? J ? V ?

- Reproduire le chromatogramme. Le colorant vert contient-il effectivement les deux colorants ? Pourquoi ?
- Calculer le rapport frontal R_f de chaque colorant.

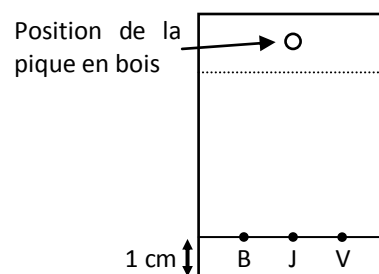
IV. CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER - CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE

a. PRINCIPE

- La chromatographie sur papier est une **chromatographie de PARTAGE** basée sur la **différence de solubilité** des espèces chimiques à séparer avec l'éluant.
- La **phase fixe** est constituée par l'**eau liée aux molécules de cellulose du papier**.
- L'éluant migre par capillarité dans le papier entraînant les espèces chimiques **d'autant plus haut qu'elles y sont solubles**.

b. CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER - INFLUENCE DE LA PHASE FIXE

- Préparer la bande de papier (4 cm x 8 cm) comme l'indique le schéma ci-contre.
- Suspendre la bande de papier avec une pique en bois sur les bords du bécher : elle doit pouvoir tremper dans l'éluant sans toucher le fond. **La ligne de dépôt doit être au-dessus de la surface de l'éluant.**
- Verser 5 mL de l'éluant 1 dans le bécher.
- Laisser évoluer jusqu'à ce que l'éluant arrive à 2 cm du haut du papier. Retirer le papier et le faire sécher.



c. EXPLOITATION

- Reproduire le chromatogramme obtenu en taille réelle. Comparer ce chromatogramme avec celui obtenu avec le même éluant sur plaque CCM.
- Déterminer les rapports frontaux R_f des deux colorants. Quel est le colorant le plus soluble dans l'éluant ? Pourquoi ?
- Que peut-on en conclure quant au R_f d'une espèce chimique en comparant les deux chromatographies ?

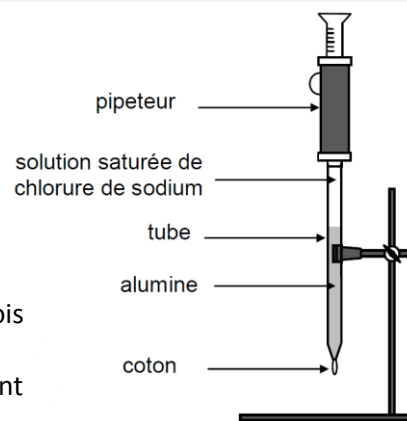
V. CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE

a. PRINCIPE

- La chromatographie sur colonne est une **chromatographie d'ADSORPTION**.
- La phase fixe est l'**alumine**, l'éluant s'écoule du haut vers le bas de la colonne.
- L'éluant migre grâce à la **gravité** et non par capillarité.

b. CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER - INFLUENCE DE LA PHASE FIXE

- Introduire un petit morceau de coton dans le fond tube pour retenir la phase fixe.
- Remplir le tube d'alumine sur 12 cm de haut.
- Avec un compte goutte remplir le haut du tube avec une solution saturée de chlorure de sodium et avec le pipeteur "pousser" lentement sur le piston pour imprégner toute l'alumine de l'éluant. Ajouter de l'éluant si besoin, et continuer à pousser jusqu'à obtenir un écoulement goutte à goutte à la base de la colonne. La colonne est prête quand le niveau de l'éluant arrive à la limite supérieure de l'alumine.
- Déposer avec une pipette Pasteur 6 gouttes du colorant vert sans toucher les parois du tube. "Pousser" avec le pipeteur pour imprégner le colorant dans l'alumine.
- Ajouter de l'éluant et "pousser". Continuer ainsi jusqu'à recueillir le premier colorant dans un mini tube à essai.
- Recueillir dans un second mini tube le second colorant, puis dans un troisième mini tube recueillir le dernier colorant.



c. EXPLOITATION

- Faire un schéma de la colonne avant de recueillir le premier colorant.
- Quels sont l'ordre et les couleurs des colorants recueillis ?
- Quel est l'avantage de la chromatographie sur colonne par rapport aux autres chromatographies ?