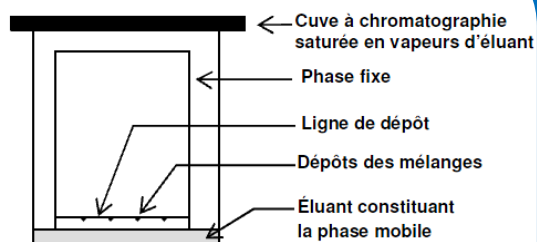


DOC1 : Présentation de la chromatographie

▪ La chromatographie est une technique très utilisée en fin de synthèse afin d'identifier la nature de l'espèce synthétisée et de vérifier sa pureté.

C'est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire (appelée **phase fixe**), l'autre mobile (appelé **éluant**).

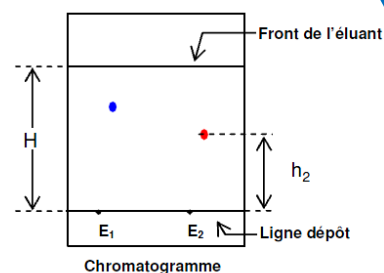
▪ Au cours de l'éluion, l'éluant monte par **capillarité** le long de la phase fixe. Les composants déposés sur la phase fixe s'accrochent plus ou moins sur la phase fixe, et ont plus ou moins de facilité à se déplacer avec l'éluant.

**DOC2 : Le rapport frontal**

▪ À une tache d'un chromatogramme correspond une seule espèce chimique. Pour caractériser cette espèce sur le chromatogramme on utilise la notion de rapport frontal, noté R_F . Par exemple pour l'espèce E_2 du chromatogramme ci-contre, il est défini par la relation :

$$R_F(E_2) = \frac{h_2}{H}$$

C'est un nombre sans unité, **caractéristique d'une substance, pour un éluant déterminé, et pour une phase stationnaire donnée.**

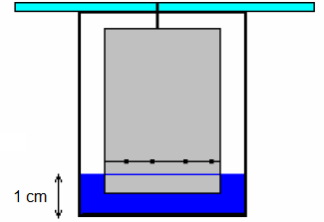


Chromatographie sur papier

- Pour les chromatographies suivantes, on utilisera comme phase fixe, un rectangle de papier Whatman.

Remarque :

Éviter de toucher le papier en plein centre ce qui pourrait perturber l'élution. Le prendre de préférence sur les cotés



- Les éluants seront versés, soit dans un simple béccher, soit dans une cuve à chromatographie. La hauteur de l'éluant dans la cuve ou le béccher ne doit pas dépasser 1 cm de hauteur.

►► Chromatographie de différents feutres

- L'éluant sera dans cette expérience de l'eau salée versée dans un simple béccher.

EXP1/

- Tracer, au crayon à papier, sur un rectangle de papier Whatman, une ligne à 1 cm du bord inférieur.
- A l'aide de différents feutres (feutres lavables et feutres permanents) faire des petits points colorés sur la ligne, espacés d'un bon cm.
- Traverser le haut supérieur du rectangle de papier par un fil de fer très fin ; ce fil permettra au papier de tenir dans le béccher
- Placer le rectangle dans le béccher contenant l'eau salée ;

Attention : la ligne de dépôt des taches doit être au-dessus du niveau de l'éluant.

→ Laisser l'élution se faire, puis observer le chromatogramme obtenu. Qu'observe-t-on ?

→ Quelles questions peut-on se poser après l'observation précédente ?

►► Chromatographie de colorants alimentaire

- On dispose de 5 éluants se trouvant dans différentes cuves à chromatographie ou bécchers:
(E₁) : De l'eau pure (E₂) : De l'éthanol (E₃) : Un mélange 50/50 eau-éthanol
(E₄) : De l'eau salée (E₅) : Du cyclohexane

EXP2/

- Tracer, au crayon à papier, sur des rectangles de papier Whatman, une ligne à 1 cm du bord inférieur.
- Déposer sur la ligne à l'aide de pics en bois, une goutte de colorant jaune (jaune de tartrazine E102), une goutte de colorant bleu (bleu patenté E131) et une goutte d'un colorant vert
- Placer les papiers filtres dans les cuves.

→ Laisser l'élution se faire, puis observer le chromatogramme obtenu. Qu'observe-t-on ? Dessiner les différents chromatogrammes obtenus.

→ Quelle est la nature du colorant vert ? Justifier votre réponse. Pourquoi le colorant vert n'a-t-il pas de code ?

→ Calculer le rapport frontal R_f des taches obtenues pour les différents colorants. Le coefficient R_f dépend-il de l'éluant choisi ?

→ Quel est le meilleur éluant pour la chromatographie des colorants sur papier Whatman? Justifier la réponse

Chromatographie sur couche mince CCM

- La plaque de CCM est une plaque en aluminium recouverte d'une poudre fine de silice.

►► Chromatographie de colorants alimentaire

EXP3/

- Verser au fond d'une cuve à chromatographie un peu d'eau salée
- Sur une plaque à CCM, tracer au crayon à papier une légère ligne ; **attention de ne pas trop appuyer sur la plaque afin de ne pas arracher la couche superficielle de silice.**
- Déposer à l'aide d'une pipette pasteur, sur chacune de ces croix, 3 taches (colorant bleu, colorant jaune et colorant vert). Après application d'une tache, sécher au sèche-cheveux.

→ Disposer la plaque dans la cuve et laisser l'élution se faire. Qu'observe-t-on ?

→ Que peut-on conclure sur l'influence de la phase fixe lors d'une chromatographie ?

►► Chromatographie de l'aspirine

- L'éluant est constitué d'un mélange d' « **acétate de butyle-cyclohexane-acide formique** » dans les proportions 6-4-1

→ Que signifie « proportions 6-4-1 » ?

- On dispose d'un comprimé susceptible d'être un comprimé d'Aspirine. On désire vérifier si c'est bien le cas en réalisant une CCM.

EXP4/

- Broyer le comprimé à l'aide d'un mortier
- Récupérer une pointe de spatule de la poudre et la dissoudre dans 1 mL d'acétate de butyle ; on obtient une solution (S1)
- Prélever une pointe de spatule d'acide acétylsalicylique pur (aspirine) et dissoudre la poudre dans 1 mL d'acétate de butyle ; on obtient une solution (S2)
- Sous la hotte, verser au fond d'une cuve à chromatographie un peu d'éluant
- Sur une plaque à CCM, tracer au crayon à papier une légère ligne ; **attention de ne pas trop appuyer sur la plaque afin de ne pas arracher la couche superficielle de silice.**
- Sur cette ligne, tracer 2 petites croix régulièrement espacées.
- Déposer à l'aide d'une pipette pasteur, sur chacune de ces croix, 2 taches (solution S1 et solution S2). Après application d'une tache, sécher au sèche-cheveux.
- Disposer la plaque dans la cuve sous la hotte.
- Quand le front de l'éluant est à environ 2 cm du haut, retirer la plaque et faire un trait au crayon pour l'indiquer puis sécher la plaque au sèche-cheveux sous la hotte.
- Placer la plaque sous la lampe UV

Remarque

Sur la plaque de CCM en aluminium recouverte de poudre de silice, on a ajouté un pigment fluorescent pour permettre une détection des produits à la lumière ultraviolette à 254 nm. A cette longueur d'onde, le pigment de la phase stationnaire émet une lumière, verte en général, sauf aux endroits où un produit absorbe le rayonnement UV ce qui provoque l'apparition de taches sombres.

→ Représenter le chromatogramme obtenu ; que peut-on en conclure ?

Chromatographie sur colonne

• La phase solide, ici de la silice, remplit une colonne (ici une petite pipette Pasteur). L'échantillon, en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression.

Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour la silice et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. A mesure que chaque zone s'écoule de la colonne, on la recueille.

La chromatographie sur colonne permet la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, à partir d'échantillons dont la masse peut atteindre plusieurs grammes, alors que les autres méthodes chromatographiques sont habituellement employées pour l'analyse et la séparation de très faibles quantités de produits.

Elle présente cependant plusieurs inconvénients:

- ***de grandes quantités de solvant sont nécessaires à l'élution***
- ***la durée de l'élution est généralement très grande***

EXP5/

- *Verser doucement de l'éthanol dans la colonne à chromatographie afin d'humidifier la silice.*
- *Déposer très doucement, à l'aide d'une pipette pasteur, l'échantillon du colorant du sirop dans la colonne à chromatographie.*
- *Lorsque le sirop de menthe a pénétré à la surface de la phase stationnaire, éluer avec de l'éthanol en remplissant la colonne.*

EXP6/

- *Verser doucement de l'eau salée dans la colonne à chromatographie afin d'humidifier la silice.*
- *Déposer très doucement, à l'aide d'une pipette pasteur, l'échantillon du colorant du sirop dans la colonne à chromatographie.*
- *Lorsque le sirop de menthe a pénétré à la surface de la phase stationnaire, éluer avec de l'eau salée en remplissant la colonne.*
- *Lorsque le premier colorant arrive en bas de la colonne le récupérer dans une première cuve.*
- *Eluer ensuite avec un autre éluant, de l'éthanol*
- *Lorsque le second colorant parvient en bas de la colonne, le récupérer dans une seconde cuve.*

→ Qu'observe-t-on ?

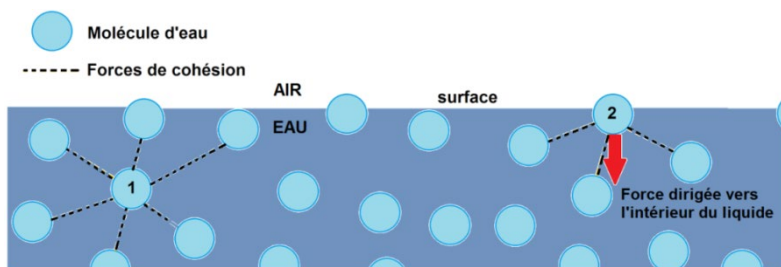
→ Quel éluant semble le plus adapté à la chromatographie ?

DOC3 : La chromatographie, toute une histoire de polarité et de solubilité...

- Les composés polaires sont très solubles dans les solvants polaires et s'accrochent très facilement sur les supports constitués de molécules polaires. Par contre les composés apolaires sont, peu solubles dans les solvants polaires, très solubles dans les solvants apolaires et s'accrochent peu sur les supports constitués de molécules polaires.
- **Ainsi le pouvoir éluant d'un solvant dépend de sa polarité. Plus un éluant est polaire, plus il entraînera facilement une substance polaire. En revanche, un solvant apolaire possèdera un mauvais pouvoir éluant vis à vis des substances polaires mais entraînera facilement un constituant apolaire. Autrement dit, si une espèce est très soluble dans la phase mobile, elle se déplacera plus vite qu'une espèce moins soluble dans la phase mobile.**

On utilise soit un solvant pur soit un mélange de plusieurs solvants de façon à « ajuster » son pouvoir éluant au système chromatographique étudié

DOC4 : Les molécules d'eau, des manchots sur la banquise...



- Dans les liquides, les molécules sont soumises à de nombreuses interactions dont la résultante est attractive, de sorte que chaque molécule aime à s'entourer de ses semblables. Une molécule bien entourée est attirée de toutes parts, c'est donc une molécule stable **(1)**. En revanche, une molécule qui se retrouve à

l'interface avec l'air perd en moyenne la moitié de ses interactions attractives **(2)**. Elle se trouve alors soumise à une force qui tend à la ramener au sein du liquide et elle passe moins d'un millième de seconde à la surface !

- La surface du liquide est donc modifiée par le comportement des molécules qui ont tendance à fuir la surface. Le liquide va spontanément s'organiser de façon à minimiser le nombre de molécules en contact avec l'air. **En effet les molécules d'eau polaires n'ont aucune affinité avec les molécules présentes dans l'air essentiellement apolaires !!**

On peut comparer ces dernières aux manchots sur la banquise : Ils tentent d'exposer le moins possible leur surface corporelle au froid mordant et tentent coûte que coûte de réintégrer la chaleur réconfortante de la horde.



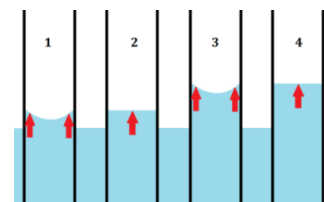
Tout comme les manchots, les molécules sont bien plus « heureuses » lorsqu'elles sont entourées par leurs semblables, avec qui elles ont entretiennent des interactions qui les stabilisent !

- Les molécules tentent donc par tous les moyens de s'éloigner de l'interface air-eau et elles tentent de rejoindre leurs « copines molécules » à l'intérieur du liquide. Autrement dit, le liquide adopte une configuration où la surface exposée à l'air, est minimale. Le liquide fait en sorte qu'il y ait le moins possible de molécules « malheureuses ».

↳ **C'est ainsi que l'on explique pourquoi les gouttes d'eau sont sphériques !** N'importe quelle autre forme aurait, pour le même volume, une surface d'exposition plus importante.

DOC5 : La capillarité

▪ La capillarité est le phénomène observé lorsque les buvards aspirent l'encre, les éponges s'imbibent d'eau. On l'observe également lorsqu'un liquide remonte contre la gravité dans un tube très fin, dit tube capillaire (car « aussi fin qu'un cheveu »).



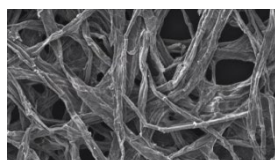
▪ Dans l'expérience sur la capillarité, il se passe deux choses :

Lorsqu'un fin tube en verre est plongé dans de l'eau, les molécules préfèrent être en contact avec les parois du tube plutôt qu'avec l'air : les molécules d'eau proches des parois commencent donc par remonter contre les parois, de façon à augmenter la surface de contact avec le tube **(1)** et diminuer sa surface de contact avec l'air.

Ces molécules d'eau proches de la paroi sont liées par des liaisons hydrogène aux molécules d'eau du centre. Elles tirent donc ces dernières qui remontent **(2)**

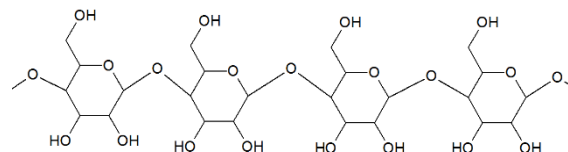
Et ainsi de suite **(3)**, jusqu'à ce que la gravité qui s'exerce sur la colonne d'eau compense exactement l'effet d'attraction vers le haut : la gravité met alors le holà à cette tour de Babel hydraulique **(4)**.

Remarque : Le verre est formé de SiO_2 fondu, et dont la surface est couverte de groupements $\text{Si}-\text{OH}$ qui permettent l'établissement de liaisons hydrogène avec les molécules d'eau et la montée de l'eau dans le capillaire. Par contre, l'eau ne monte pas dans un tube plastique en polyéthylène plongé dans l'eau, car il n'y a pas de groupement $-\text{OH}$ dans le polyéthylène.



▪ **Et pourquoi l'eau remonte-t-elle dans notre papier buvard, ou papier filtre ?**

Ces papiers sont faits de cellulose, dont les fibres sont séparées par des cavités contenant de l'air.



Les molécules d'eau préfèrent être en contact avec les fibres de cellulose plutôt qu'avec l'air ; d'autant plus que la cellulose est constituée de très nombreux groupe $-\text{OH}$, qui rendent la cellulose polaire et qui permettent aux molécules d'eau polaires de s'accrocher grâce à la formation de liaisons hydrogène.

En conclusion : La chromatographie est une technique qui permet :

- de vérifier qu'une substance est pure ;
- de séparer les constituants d'un mélange ;
- de les reconnaître par comparaison avec un témoin.

Le protocole d'une chromatographie est difficile à élaborer car la séparation des substances dépend de plusieurs facteurs :

- de la nature des substances
- de la nature de l'éluant
- de la nature de la phase fixe

Mais une fois que le protocole est élaboré, il est très facile de le mettre en œuvre !!