

TP 3. Réaliser une chromatographie sur couche mince (C.C.M)

La chromatographie est une technique d'analyse chimique utilisée pour séparer et d'identifier les substances chimiques présentes dans un mélange. Elle nécessite un support comme du papier ou une plaque à chromatographie et une phase liquide appelée éluant.

L'éluant est un solvant pur ou mélange de solvants qui entraîne les espèces à analyser par capillarité, alors que la phase fixe (matériau de la plaque : cellulose ou gel de silice) les retient. Les corps purs migrent plus ou moins vite, ce qui permet leur séparation.

I. Réalisation de la chromatographie :

▶▶ 1. Préparation de la cuve

- Si besoin, préparer le mélange de solvants qui constituera l'éluant, puis en verser dans la cuve à chromatographie afin d'obtenir une hauteur de liquide d'environ 1 cm.
- Boucher la cuve afin d'éviter l'évaporation des solvants.

▶▶ 2. Préparation de la plaque

Attention ! Si la plaque utilisée est une plaque de silice, elle est très fragile. Éviter de la toucher avec les doigts.

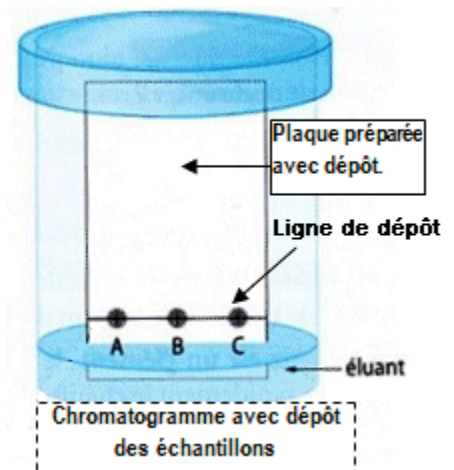
- Tracer au crayon gris, à environ 1,5 cm du bord inférieur de la plaque, un trait qui constitue la ligne de dépôt.
- Placer sur cette ligne des marques, régulièrement espacées, dont le nombre est égal à celui des échantillons à déposer.

▶▶ 3. Dépôt des échantillons

- À l'aide d'une pointe fine, déposer les échantillons sur leurs marques respectives. La tache de dépôt ne doit pas dépasser 3 mm, et il faut changer de pique pour chaque échantillon.

▶▶ 4. Éluion

- Introduire la plaque verticalement dans la cuve : la ligne de dépôt doit être au-dessus du niveau du solvant. Boucher la cuve.
- Le solvant contenu dans la cuve monte le long de la plaque : c'est l'étape d'éluion. Attendre que l'éluant arrive à environ 1 cm du haut de la plaque, puis retirer la plaque et repérer par un trait la hauteur maximale atteinte par l'éluant (c'est la ligne de front).



▶▶ 5. Révélation du chromatogramme

- Dans le cas de composés colorés, le chromatogramme est directement exploitable.
- Pour les composés incolores, il est nécessaire de faire apparaître les taches : c'est l'étape de révélation. On peut pour cela utiliser une lampe à ultraviolet, des vapeurs de diiode ou une solution de permanganate de potassium. Attention! Ne pas regarder directement la lumière d'une lampe à ultraviolet.
- Entourer chaque tache au crayon.

▶▶ 6. Exploitation de la C.C.M.

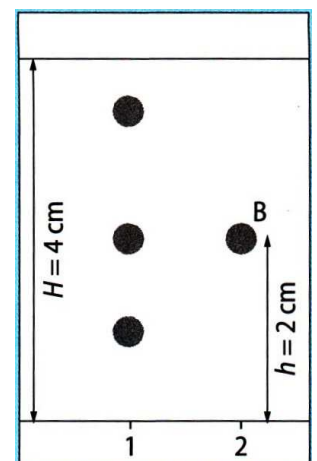
- La distance parcourue entre la ligne de dépôt et le centre de la tache dans des conditions données (phase fixe et éluant connus) est caractéristique de l'espèce chimique : elle est identique que l'espèce soit pure ou dans un mélange.
- Pour identifier une espèce d'un mélange, on peut donc comparer la distance parcourue pour une tache d'un mélange avec celle obtenue pour l'espèce chimique pure.

Les espèces qui ont migré à des hauteurs identiques sont les mêmes.

On peut aussi calculer le rapport frontal (noté R_f) pour chaque tache observée :

$$R_f = \frac{h}{H}$$

h est la distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tache ; c'est la distance parcourue par l'espèce chimique
 H est la distance parcourue par l'éluant dans le même temps ; c'est la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant.



Exploitation d'un chromatogramme

h et H doivent être exprimées dans la même unité. Donc R_f est sans unité

II. Chromatographie de colorants alimentaires

1) Mode opératoire :

On dispose de colorants alimentaires de couleurs verte et jaune et bleu..

On désire savoir si ces espèces sont pures ou constituent des mélanges homogènes.

La phase fixe : papier à chromatographie

Eluant : mélange de solution de chlorure de sodium à 40 g.L⁻¹ et d'alcool, sur une hauteur d'environ 5 à 8 mm (verser quelques mL d'éluant dans le bécher). Couvrir.

2) Exploitation

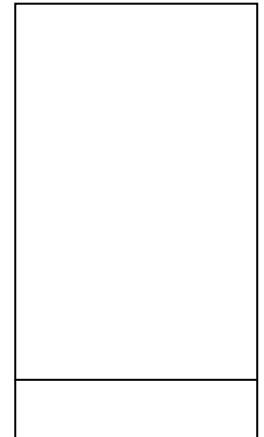
1) Reproduire les taches observées

2) Mesurer : la hauteur H de montée de l'éluant

La hauteur h des taches par rapport à la ligne de dépôt.

3) Calculer le rapport frontal : $Rf = \frac{h}{H}$ pour toutes les taches.

4) Que peut-on dire des colorants vert et jaune ?



III. Chromatographie de différentes encres.

Réaliser la chromatographie.

Coller votre chromatogramme.

Le commenter.

IV. Colorants alimentaires

La loi impose de mentionner sur les étiquettes des produits alimentaires, la présence de colorants. Pour cela, un code a été adopté par toute l'Europe : la lettre E suivie d'un nombre compris entre 100 et 200 (voir tableau ci-dessous).

Code	Nom	Origine	Couleur	Usages
E102	tartrazine	synthèse	jaune	Pâtisseries, boissons
E104	Jaune de quinoléine	synthèse	jaune	Confiseries, boissons
E110	Jaune orangé S	synthèse	jaune	Pâtisseries, boissons
E122	azurobine	synthèse	rouge	Grenadine, viandes
E124	cochenille	synthèse	rouge	Grenadine, confiseries
E131	Bleu patenté V	synthèse	bleu	Sirop, glaces
E150	caramel	naturel	brun	Pâtisseries, potages, ...
E160	caroténoïdes	Nat./synth.	variable	Potages, charcuterie, ...

Avant d'autoriser l'emploi d'un colorant alimentaire, des études sont faites pour vérifier son absence de toxicité. Certains colorants ont d'ailleurs été interdits, car ils pouvaient favoriser des maladies (allergies, ...). Pour d'autres, la loi fixe une dose à ne pas dépasser : **la D.J.A.** (dose journalière admissible)