

Niveau 2^{nde}

THEME : LA SANTE

Physique – Chimie

PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE

Programme : BO spécial n°4 du 29/04/10

LA SANTE

NOTIONS ET CONTENUS	COMPETENCES ATTENDUES
Les médicaments : un médicament générique et un médicament « princeps » contiennent un même principe actif mais se différencient par leur formulation.	
Chromatographie sur couche mince.	<i>Réaliser et interpréter une chromatographie sur couche mince (mélanges colorés et incolores).</i>

Pré requis :

- Chromatographie de colorants alimentaires
- Mélange
- Corps pur

Mots-clé

- Chromatographie
- Elution
- Révélation
- Rapport frontal
- Colorant
- Mélange homogène
- Espèce chimique pure

Liste de matériel*Poste élève*

- | | |
|-----------------------------------------------------------------|---------------|
| ○ Cuve de chromatographie (+ couvercle) | Ref. 06759 |
| ○ Plaque de cellulose sur support polyester 4 cm × 8 cm | Ref. 07895 |
| ○ Plaque de silice sur support polyester sensible aux rayons UV | Ref. 06492 |
| ○ Pipettes Pasteur | Ref. 06887 |
| ○ Tétine en caoutchouc | Ref. 91246 |
| ○ Colorant bleu patenté | Ref. 01326060 |
| ○ Colorant jaune tartrazine | Ref. 01327060 |
| ○ Colorant alimentaire vert | Ref. 01329060 |
| ○ Séchoir | Ref. 13238 |
| ○ Balance | Ref. 06089 |
| ○ Coupelle de pesée | Ref. 13439 |
| ○ Spatule | Ref. 06652 |
| ○ Flacon contenant l'éluant | Ref. 06721 |
| ○ Ethanoate de butyle | Ref. 01247980 |
| ○ Cyclohexane | Ref. 01320980 |

○ Eugénol	Ref. 01391060
○ Lampe UV	Ref. 13728
○ Lunette	Ref. 12525
○ Diode solide	Ref. 01492100
○ Flacon large ouverture	Ref. 06790
○ Plaque chauffante	Ref. 15263
○ Hotte aspirante	Ref. 10500691
○ Blouse de laboratoire	Ref. 91715
○ Gants	Ref. 91693
○ Acétylougénol	
○ Huile essentielle des clous de girofle du commerce	
○ Alcool à brûler	
○ Chlorure de sodium	Ref. 01808980
○ Eau	
○ Papier Whatman	
○ Crayon à papier	
○ Règle	

Remarques, astuces

- Pour illustrer la migration de l'éluant sur la plaque de chromatographie, on pourra évoquer la montée du café dans un morceau de sucre.
- Pour obtenir un meilleur résultat lors des chromatographies, on peut sécher les plaques de chromatographie dans une étuve quelques minutes.
- Pour réaliser la chromatographie des colorants alimentaires, il est possible d'utiliser, comme plaque de chromatographie, du papier *Whatman*, papier ayant un faible taux d'impuretés et dont les caractéristiques physiques sont uniformes.
- Si pour réaliser la chromatographie des colorants alimentaires, on utilise du simple papier filtre comme plaque de chromatographie, on peut fixer avec un adhésif le haut du papier filtre sur une tige de verre ce qui évite au papier de tomber lors de l'élution.
- Pour la préparation de l'éluant nécessaire à la chromatographie des colorants alimentaires, réaliser dans une bouteille de 1,5 L, une solution contenant 1 L d'eau, 50 cL d'alcool à brûler et 100 g de sel.
- Pour saturer l'atmosphère de la cuve en vapeur d'éluant, on appliquera verticalement un papier filtre contre la paroi puis on versera l'éluant.
- En l'absence de sèche-cheveux, les radiateurs de la salle de classe ou une fenêtre entrouverte peuvent permettre un séchage satisfaisant des plaques de chromatographie après élution.
- Pour réaliser les dépôts E et HC lors de la chromatographie des huiles essentielles de clous de girofle, on dilue les solutions commerciales pour ne pas saturer la couche de silice (5 gouttes de solution commerciale dans 40 gouttes de cyclohexane).
- Pour la préparation de l'éluant nécessaire à la chromatographie de l'huile essentielle des clous de girofle, réaliser dans un flacon de 250 mL, une solution contenant 40 mL d'éthanoate d'éthyle et 200 mL de cyclohexane.

- Les vapeurs de diiode sont toxiques, la révélation de la plaque de chromatographie des huiles essentielles de clous de girofle se fait sous la hotte aspirante en utilisant des gants. Cette plaque sera éliminée dans le respect de l'environnement à la fin de la séance.
- Attention, certains élèves peuvent être allergiques au diiode

Prolongements

- **Activité documentaire sur l'histoire de la chromatographie**
La chromatographie fut découverte en 1906 par le botaniste russe, Mikhail Semenovitch TSWETT (ou TSVETT), mais il fallut attendre les années 1930 pour qu'elle soit largement utilisée. TSWETT avait constaté la séparation des constituants colorés de la chlorophylle brute lorsque sa solution migrait le long d'un papier filtre. Les différents constituants formaient en effet des bandes de couleurs distinctes à des hauteurs différentes.
- **Activité documentaire sur les colorants alimentaires**
L'être humain est sensible à l'aspect des aliments qu'il consomme d'où l'utilisation de colorants depuis l'antiquité. Les premiers colorants étaient extraits des plantes (rouge de betteraves, vert de la menthe ...) ou des animaux. Dès le XIX^{ème} siècle, ils furent remplacés par des nombreux colorants de synthèse. Depuis la tendance est de substituer les colorants de synthèse par des colorants naturels.

Nom :
Prénom :
Classe :
Date :

Physique – Chimie

Thème : La santé**PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE****Objectifs**

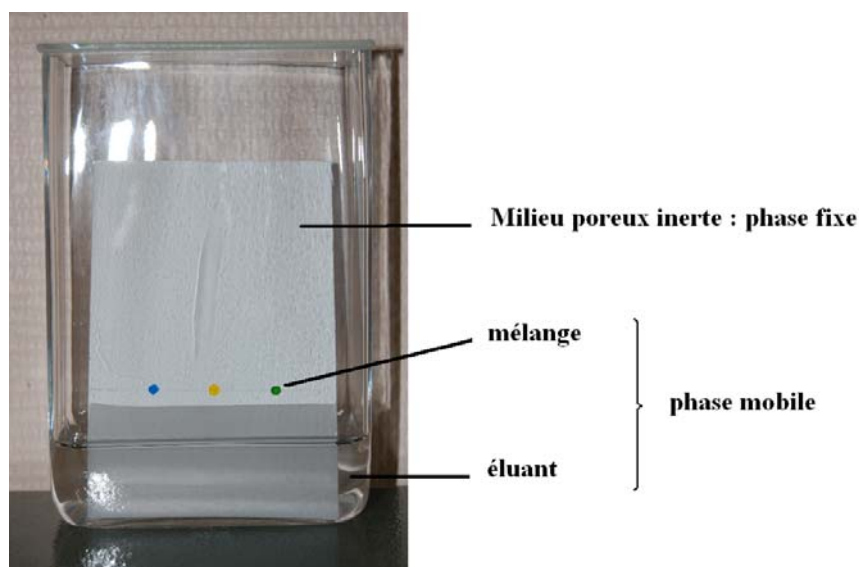
- **Connaître le principe de la chromatographie**
- **Réaliser et interpréter une chromatographie sur couche mince (CCM) pour des mélanges d'espèces chimiques colorés et incolores**

Principe de la chromatographie.

La chromatographie est une technique qui permet, de séparer différents composés d'un mélange homogène et de les identifier. Elle permet également de vérifier la pureté d'une substance.

Le **mélange** homogène, véhiculé par un solvant inerte appelé **éluant**, compose **la phase mobile** qui progresse par migration dans un **milieu poreux inerte** constituant **la phase fixe**.

Compléter la photographie suivante à l'aide des mots mis en gras dans la phrase précédente :



Les composés du mélange étant entraînés, lors de l'éluion, à des vitesses différentes, ces derniers sont séparés.

La chromatographie est donc basée sur une différence de solubilité entre les composés d'un mélange dans un solvant appelé éluant.

ACTIVITÉ 1 : Chromatographie de colorants alimentaires.

On dispose de colorants alimentaires Bleu, Vert et Jaune contenus dans certaines pâtisseries ou certains bonbons.

On souhaite savoir si ces colorants sont des espèces chimiques pures ou des mélanges homogènes.

1. Préparation de la cuve de chromatographie :

Dans une cuve à chromatographie, verser de l'éluant sur une hauteur de 1,5 cm. Couvrir la cuve.

L'éluant utilisé ici est une solution formée par le mélange d'1 L d'eau, 50 cL d'alcool à brûler et 100 grammes de chlorure de sodium, c'est-à-dire de sel.

2. Préparation de la phase fixe de chromatographie :

- ✓ Prendre une plaque de cellulose sur support polyester 4 cm × 8 cm.
- ✓ Tracer au crayon un trait fin parallèle au bord inférieur de la plaque à une hauteur de 2,5 cm : c'est la **ligne de dépôt**.
- ✓ Repérer sur cette ligne 3 positions équidistantes notées B, V et J.
- ✓ Déposer à l'aide de micropipettes ou de piques apéritifs dont l'extrémité a été écrasée, une goutte de chaque colorant alimentaire Bleu, Vert et Jaune sur la ligne de dépôt sur les positions pré repérées.
- ✓ Après chaque dépôt, sécher rapidement à l'aide d'un sèche-cheveux.



3. Elution :

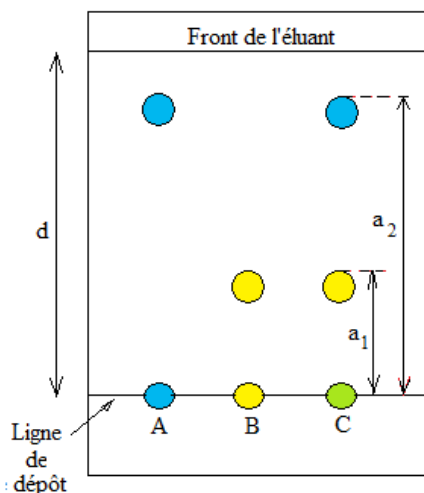
Descendre la plaque dans la cuve de chromatographie : la technique choisie permet aux taches de colorants de rester au-dessus de l'éluant.

Lorsque l'éluant est à 1 cm environ du bord supérieur, sortir la plaque et noter, à l'aide d'un crayon, le niveau de l'éluant : c'est le **front de l'éluant**. Sécher à l'aide d'un sèche-cheveux.

4. Analyse :

La plaque de chromatographie a été reproduite ci-dessous :

- a. Repérer les dépôts notés ici A, B et C en les coloriant dans l'ordre en Bleu, Jaune ou Vert



A : colorant bleu : bleu patenté
E 131

B : colorant jaune : tartrazine
E 102

C : colorant vert

- b. Le colorant alimentaire bleu est-il un corps pur ou un mélange ? Justifier.
Le colorant bleu donne une seule tache, il est donc constitué d'une seule espèce chimique.
Le colorant bleu est une espèce chimique pure.
- c. Le colorant alimentaire jaune est-il un corps pur ou un mélange ? Justifier.
Le colorant jaune donne lui aussi une seule tache. Le colorant jaune est également une espèce chimique pure.
- d. Le colorant alimentaire vert est-il un corps pur ou un mélange ? Justifier.
Le colorant vert donne deux taches, il est constitué de deux espèces chimiques.
Les deux taches sont situées au même niveau que celles obtenues avec les colorants bleu et jaune. Le colorant vert est donc constitué de ces deux colorants, c'est un mélange d'espèces chimiques.
- e. On calcule, pour chaque constituant, sa « vitesse de déplacement » ou « **rapport frontal R_f** » d'après la relation suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}} \quad (\text{sans unité})$$

Ainsi, Pour le constituant A : $R_{f1} = a_1 / d$ et pour le constituant B : $R_{f2} = a_2 / d$

L'intérêt du rapport frontal est que si deux espèces chimiques ont le même rapport frontal, c'est qu'elles sont identiques.

Calculer le rapport frontal des colorants bleu et jaune.

$$R_f(\text{bleu}) = 1/4,5 = 0,22 \quad ; \quad R_f(\text{jaune}) = 4,5/4,5 = 1$$

ACTIVITE 2 : Chromatographie de l'huile essentielle des clous de girofle.

1. Préparation de la cuve de chromatographie :

L'éluant utilisé est un mélange d'un volume d'éthanoate d'éthyle pour cinq volumes de cyclohexane.

2. Préparation de la plaque de chromatographie :

- ✓ Sur une plaque de silice sur support polyester sensible aux rayons ultra-violets, notés U.V., tracer une ligne de dépôt à 2 cm du bord inférieur

ATTENTION À NE PAS POSER LES DOIGTS SUR LA PLAQUE DE SILICE.

- ✓ Y repérer trois positions équidistantes, notées E, HE et HC.

Déposer :

- une petite goutte d'eugénol en E,
- une petite goutte d'huile essentielle de clou de girofle préparée au TP précédent (C8) en HE,
- une petite goutte d'huile essentielle des clous de girofle du commerce en HC.

- ✓ Après chaque dépôt, sécher rapidement à l'aide d'un sèche-cheveux.



3. Elution :

Placer la plaque dans la cuve de chromatographie contenant 1 cm de hauteur d'éluant.

Lorsque l'éluant est à 1 cm environ du haut, sortir le papier et noter, à l'aide d'un crayon, le front de l'éluant. Sécher.

4. Révélation :

Les composés à séparer ici sont incolores, il faut les révéler pour pouvoir analyser le chromatogramme. On utilise alors un **révélateur**, c'est-à-dire une substance qui réagit avec les composés à séparer en formant des composés colorés ; à chaque type de composés correspond un révélateur.

Exemples de révélateur : rayonnement U.V., vapeur de diiode, permanganate de potassium,....

Applications :

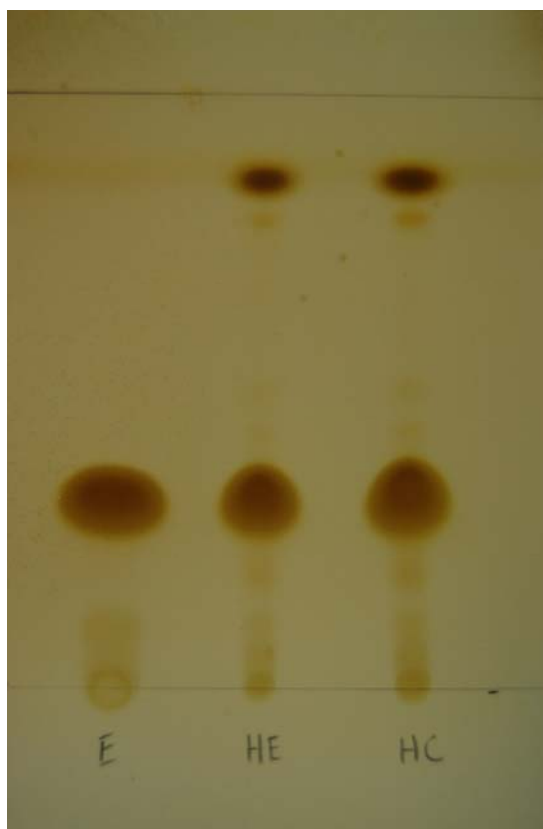
Placer la plaque obtenue sous une lampe à U.V. et cercler les tâches ainsi révélées.

Placer ensuite cette même plaque dans un récipient saturé de vapeurs de diiode.



5. Analyse :

- a. Dessiner la plaque et les taches obtenues à l'échelle 1.



- b. L'eugénol est-il un corps pur ou un mélange ? Justifier
 L'eugénol donne une seule tache, l'eugénol est donc une espèce chimique pure.
- c. Que peut-on dire de la composition de l'huile essentielle des clous de girofle préparée au TP précédent ?
 Les taches obtenues avec l'huile essentielle des clous de girofle, préparée au TP précédent, sont identiques à celles obtenues avec l'huile essentielle des clous de girofles du commerce.
 Lors de ce TP, nous avons bien extrait l'huile essentielle des clous de girofle
- d. Que peut-on dire de la composition de l'huile essentielle des clous de girofle du commerce ?
 L'huile essentielle des clous de girofles du commerce donne plusieurs taches dont une située au même niveau que celle obtenue avec l'eugénol.
 L'huile essentielle des clous de girofles du commerce est donc constituée d'un mélange d'espèces chimiques dont l'eugénol.