

Atelier scientifique MPS – L'analyse chimique – Partie 1
Chromatographie – Séance 2

La *chromatographie* est une méthode utilisée pour l'identification d'espèces chimiques. On va réaliser une chromatographie *sur couche mince* (CCM en abrégé), qui consiste à déposer les substances à analyser sur une plaque, à placer la plaque dans une cuve quelques minutes, puis à analyser le résultat.

a. Notez l'objectif du jour.

.....

b. Cette technique fait intervenir de nombreux mots nouveaux ; à la fin de la fiche, complétez les mots *chromatographie* et *CCM* dans le petit *glossaire*.

1 Préparation de la cuve

Les substances chimiques à analyser sont plus ou moins solubles dans l'éluant ; celui-ci va se déplacer (*migrer*) par capillarité le long de la plaque, entraînant plus ou moins les substances déposées.

Ce « plus ou moins » est l'une des difficultés majeure de la chromatographie sur couche mince : il convient de bien choisir l'éluant, afin d'avoir des résultats exploitables.

Pour éviter que l'*éluant* ne s'évapore au fur et à mesure de sa montée sur la plaque, il est *très important* de saturer la cuve en vapeurs d'éluant, en plaçant l'éluant dans celle-ci au moins dix minutes avant d'introduire la plaque, et en bouchant la cuve.

Différents éluants sont disponibles, se répartir le travail.

c. Notez la composition de l'éluant utilisé.

.....

.....

.....

d. Complétez le glossaire avec la définition de *solvant*, d'*éluant*, de *soluté*, de *capillarité*.

2 Préparation de la plaque

Sur une plaque recouverte de silice, tracer un trait très fin au crayon de papier à 1 cm du bas, et repérer sur ce trait deux ou trois positions, par deux ou trois tirets ou croix équidistants.

e. Dressez un grand schéma légendé de la plaque.

f. Complétez le glossaire avec le mot *silice*.

3 Dissolution des substances à analyser

Dans des tubes à hémolyse, dissoudre le ou les poudres à analyser dans quelques millilitres d'éthanol ou d'acétate de butyle, à verser goutte-à-goutte à l'aide d'une pipette simple. Concentrer au maximum ces solutions (ne pas trop les diluer en ajoutant trop de solvant).

Remarque : l'utilisation de solvants organiques volatils et inflammables nécessite l'utilisation de la ventilation et l'absence stricte de flamme dans la salle.

g. Complétez le glossaire avec la définition d'*inflammable*.

4 Dépôt des substances à analyser

Les dépôts de chaque substance sont effectués avec des *tubes capillaires*. Il faut faire de très petits dépôts, sans quoi les substances déposées vont se mélanger entre elles lors de l'*élution*.

Effectuez ces dépôts, et contrôlez leurs tailles sous la lampe UV.

h. Complétez le schéma de la plaque précédent ; complétez aussi le glossaire avec les définitions de *ligne de dépôt* et *point de dépôt*.

5 Développement de la plaque

Le développement consiste à faire monter l'éluant sur la plaque par capillarité : c'est la migration.

Le volume d'éluant versé dans la cuve ne doit pas être trop élevé, afin de ne pas submerger les dépôts ; la plaque ne doit pas toucher les parois de la cuve, et l'ensemble doit être laissé parfaitement immobile tout au long du développement.

i. Complétez le schéma de la plaque précédent, montrant la plaque en cours de développement. Complétez le glossaire avec le mot *développement*.

Lorsque le front de l'éluant parvient à 1 cm du haut de la plaque, la retirer de la cuve. Repérer alors rapidement le front de l'éluant, à l'aide d'un trait au crayon de papier, et sécher par agitation.

j. Complétez le glossaire avec la définition de *front de solvant*.

6 Révélation des taches

Lorsque les substances analysées sont colorées, leur révélation est immédiate ; dans le cas contraire, on peut procéder à une *révélation* :

- aux ultraviolets ;
- au diode ;
- au permanganate de potassium...

On dispose de plaques sensibles aux ultraviolets. Les placer sous la lampe UV. Ce que l'on observe correspond à ce que l'on appelle une *migration* des taches.

Marquer au crayon de papier les positions successives atteintes par les divers constituants. Joindre cette plaque, appelée alors *chromatogramme*, au compte-rendu.

k. Complétez le glossaire avec le terme *révélation*.

7 Identification des composés

On peut interpréter le résultat de deux manières :

- Par comparaison avec un corps pur ou un mélange connu. Contrainte : il faut avoir le produit pur en réserve au laboratoire, et en faire un dépôt à côté de l'extrait à analyser à chaque fois ;
- Par calcul du *rapport frontal* R_f de chaque tache, ce rapport (défini ci-dessous) étant caractéristique pour chaque corps pur, et comparaison avec une table contenant tous les rapports frontaux de toutes les substances connues. Contrainte : il faut rechercher dans des tables numériques.

l. Dans quel cas se trouve-t-on avec le chromatogramme obtenu précédemment ?

.....
.....

Pour le calcul du rapport frontal, on mesure la hauteur atteinte par le solvant, notée D_S , et les hauteurs atteintes par les diverses taches du mélange, notées D_{C_1} , D_{C_2} , ... toutes ces hauteurs étant mesurées à partir de la *ligne de base*, c'est-à-dire le trait de crayon tracé au bas de la plaque. Pour chaque tache, on calcule le rapport frontal :

$$R_f = \frac{D_C}{D_S}$$

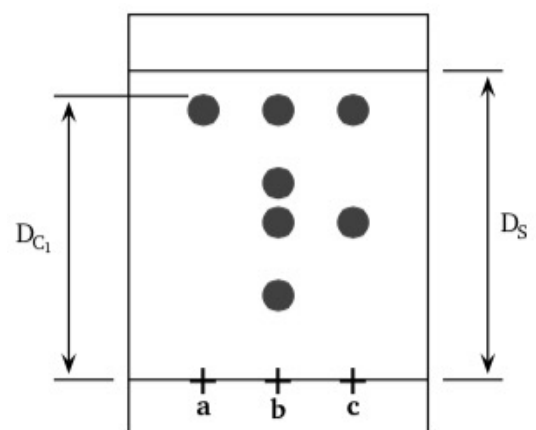


Schéma de principe pour la mesure de la hauteur de migration du constituant noté C_1 .

m. Calculer tous les rapports frontaux (page suivante). Conclure.

Calculs des rapports frontaux

Rapport frontal n° 1

.....

.....

.....

Rapport frontal n° 2

.....

.....









.....

Conclusion









Compétences évaluées

Voici les compétences évaluées au cours de cette séance, dans l'ordre d'évaluation :









- Réaliser, manipuler, appliquer des consignes.

Auto-évaluation	Évaluation professeur
   	   





- Savoir s'évaluer.

Auto-évaluation	Évaluation professeur
   	   

- Manifester curiosité, motivation à travers des activités conduites ou reconnues par l'établissement.

Auto-évaluation	Évaluation professeur
   	   

Voici le mode d'évaluation retenu pour ces compétences :

-  J'ai réussi tout seul ;
-  J'ai compris mais j'ai fait quelques erreurs ;
-  J'ai encore besoin de m'entraîner ;
-  Je n'ai pas compris, il faut que je recommence.

Données

Paracétamol (4-acétylaminophénol)
Poudre cristalline blanche ;
Température de fusion : 168°C ;
Soluble dans l'eau chaude, peu soluble dans l'eau froide ;
Facilement soluble dans l'éthanol.

Aspirine (acide acétylsalicylique)
Poudre cristalline blanche ;
Température de fusion : 135°C ;
Soluble dans l'eau chaude, peu soluble dans l'eau froide ;
Facilement soluble dans l'éthanol.

Chromatographie

.....

.....

CCM

.....

Solvant

.....

Éluant

.....

Soluté

.....

Capillarité

.....

Silice

.....

Inflammable

.....

Ligne de dépôt

.....

Point de dépôt

.....

Développement

.....

Front du solvant

.....

Révélation

.....

Rapport frontal

.....

.....

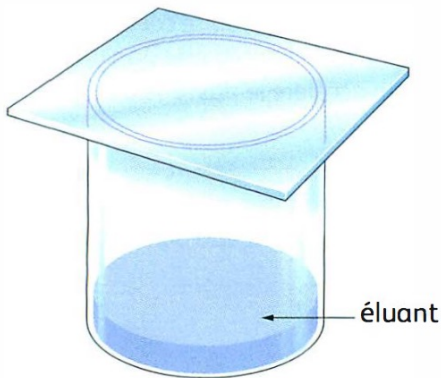
Annexe n° 1 – Pictogrammes en chimie

Pictogramme	Signification	Précautions à prendre
	Nocif Danger pour la santé	Éviter l'ingestion, l'inhalation et le contact avec la peau et les yeux.
	Corrosif Danger de corrosion	Éviter le contact avec la peau, les yeux et les vêtements.
	Inflammable Danger d'incendie	Tenir loin des flammes et des sources de chaleur, refermer le flacon.
	Comburant Produit comburant	Tenir loin des flammes et des substances combustibles
	Explosif Danger d'explosion	Éviter les chocs et tenir loin des flammes et des sources de chaleur.
	Dangereux pour l'environnement Danger pour l'environnement	Récupérer dans un centre de collecte de déchets
	Toxique Danger de toxicité aiguë	Proscrire l'ingestion, l'inhalation et le contact avec la peau et les yeux.
	Sensibilisant Danger pour la santé	Manipuler avec les protections adéquates.
	Gaz sous pression ou réfrigéré Danger d'explosion	Produits à stocker et à utiliser avec précaution à l'ouverture.

Annexe n° 2 – Mode opératoire d'une CCM

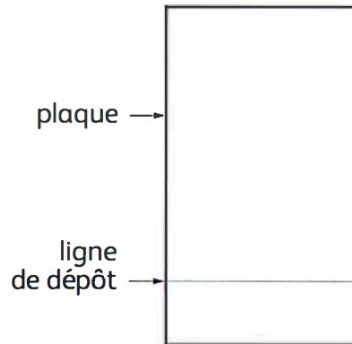
La chromatographie sur couche mince (CCM) permet de séparer les espèces chimiques contenues dans un mélange liquide et, aussi, de les identifier par comparaison.

a Préparation de la cuve à élution



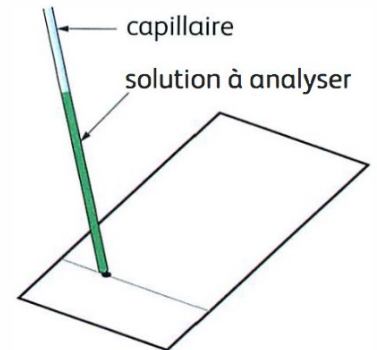
La cuve est un récipient qui peut être fermé par un couvercle, comme un pot de confiture. Introduire dans la cuve le solvant d'élution sur une hauteur de 5 à 10 mm. Fermer la cuve. La cuve se sature en vapeurs d'éluant, souvent en une dizaine de minutes.

b Préparation de la plaque



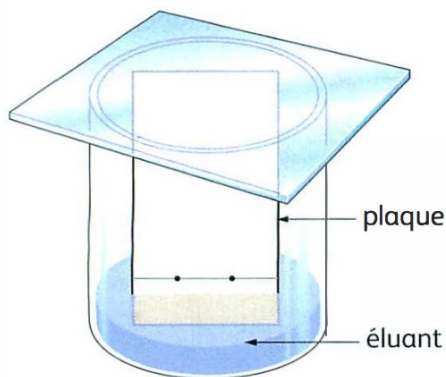
Découper une plaque de chromatographie à la bonne dimension (le vérifier dans une cuve vide). Y tracer, au crayon, une ligne de dépôt très légère à environ 15 mm de son bord inférieur.

c Dépôt des espèces chimiques



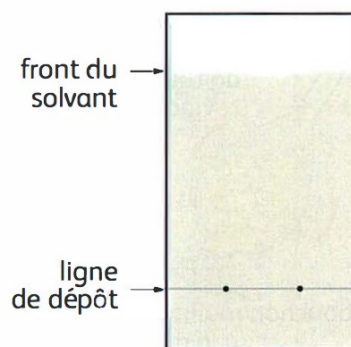
Avec un capillaire, déposer sur la ligne de dépôt une microgoutte de chaque solution à analyser. Le diamètre des taches ne doit pas dépasser 3 mm. Si les espèces sont révélées par la lampe UV, vérifier qu'elles sont visibles avant élution.

d Éluion



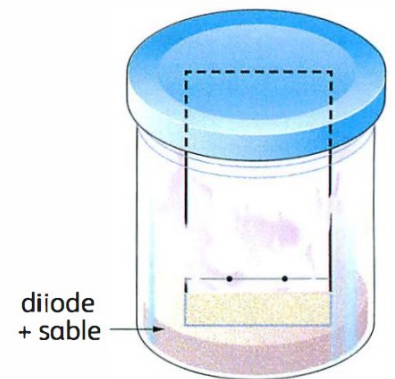
Introduire la plaque dans la cuve. Les dépôts ne doivent pas tremper dans l'éluant. Refermer et laisser la migration s'effectuer le plus loin possible (ou jusqu'à ce que l'éluant arrive à environ 15 mm du bord supérieur de la plaque).

e Séchage de la plaque



Dès la sortie de la plaque de la cuve à élution, marquer au crayon le niveau atteint par le front du solvant sur la plaque. La laisser sécher à l'air pendant quelques minutes.

f Révélation



Choisir un mode de révélation en liaison avec les propriétés de l'espèce que l'on veut révéler : diode (ici schématisé), lampe UV ou révélateur plus spécifique. Le chromatogramme est prêt.