

## *Ce qu'il faut retenir*

### Un procédé d'identification: la chromatographie

#### 1. Qu'est-ce que la chromatographie ?

La **chromatographie** est un procédé de **séparation** et **d'identification** d'espèces chimiques présentes dans un mélange **par différence d'affinité** à l'égard **de deux phases**:

- l'une **fixe** appelée **phase stationnaire**,
- l'autre **mobile** appelée **phase mobile** ou **éluant**.

##### Pourquoi y a-t-il séparation ?

Au cours d'une chromatographie, les espèces chimiques d'un échantillon de mélange sont à la fois :

- *retenues par la phase stationnaire,*
- *et entraînées par la phase mobile.*

Chacune des espèces chimiques **interagissant différemment** avec la phase fixe et la phase mobile, leurs vitesses de migration sont différentes : il en résulte une **séparation** des espèces chimiques d'un mélange.

##### Comment identifier une espèce chimique dans un mélange ?

Pour une phase fixe et une phase mobile donnée, deux espèces chimiques identiques ont la même vitesse de migration car elles interagissent de la même façon avec la phase fixe et la phase mobile : elles ont alors à tout instant **le même niveau de migration**.

D'où la **méthode d'identification**

**On identifie** une espèce chimique dans un mélange **par comparaison de son niveau de migration** avec celui **d'une espèce chimique connue** ou **espèce de référence** : en cas **de niveaux de migration identiques**, le mélange contient l'espèce chimique de référence en question.

#### 2. Exemples de chromatographies

- **Chromatographie sur couche mince** (C.C.M) : la phase fixe est solide (gel de silice ou alumine), l'éluant est liquide.
- **Chromatographie sur papier**: la phase fixe est constituée par du papier poreux (papier filtre par exemple) et l'éluant est liquide.

Pour les deux types précédents de chromatographie, le phénomène responsable de la migration de l'éluant est le phénomène de **capillarité**.

- **Chromatographie sur colonne**: la phase fixe est un solide disposé dans une colonne (par exemple du gel de silice) et l'éluant **migre par gravité** (vers le bas).

#### 3. Aspect microscopique de la chromatographie

La chromatographie fait intervenir la solubilité d'espèces chimiques souvent organiques (soluté) dans un solvant (phase mobile ou phase fixe).

La solubilité d'un soluté dans un solvant est liée **aux structures des entités chimiques** qui les constituent. Ces entités chimiques sont de deux types :

- des ions ;
- des molécules qui peuvent être **polaires** (exemple : eau, éthanol) ou **apolaires** (exemple cyclohexane).

La séparation des constituants d'un mélange par chromatographie dépendra donc des divers types d'interaction.

Le tableau ci-après précise qualitativement la force des interactions entre soluté et solvant suivant leur nature.

Solvant \ Soluté	polaire	apolaire
ionique	forte	faible
polaire	forte	faible
apolaire	faible	forte

**Exemple d'application :** dans les cas ci-après dire si l'espèce chimique déposée sur une couche mince migre peu ou beaucoup.

<b>Eluant</b>	polaire	polaire	apolaire
<b>Phase fixe</b>	apolaire	apolaire	polaire
<b>Espèce chimique déposée</b>	polaire	apolaire	ionique
<b>migration</b>			

## 4. Les étapes du protocole d'une chromatographie

### ◆ Première étape :

**Dépôt d'échantillons** (espèces chimiques pures ou mélange d'espèces chimiques en solution dans un solvant approprié) **sur une ligne de dépôts** tracée la phase fixe qui peut être du **papier absorbant** (chromatographie sur papier) ou une couche mince de gel de silice ou d'alumine (chromatographie sur couche mince ou **C.C.M**).

### ◆ Deuxième étape

**Immersion du support** (ou plaque de chromatographie) **dans une cuve à élution**, contenant un **fond d'éluant**, fermée par un couvercle de façon à ce que l'atmosphère de la cuve **soit saturée en vapeurs d'éluant** : les dépôts d'échantillons doivent être au-dessus du niveau de l'éluant

### ◆ Troisième étape

**L'élution**, c'est à dire la migration de l'éluant sur le support, entraînant les espèces chimiques présentes dans les dépôts et provoquant une **séparation de ces espèces**; l'élution est arrêtée lorsque le **front de l'éluant** est non loin du bord supérieur de la plaque; on le repère alors d'un trait de crayon.

### ◆ Quatrième étape

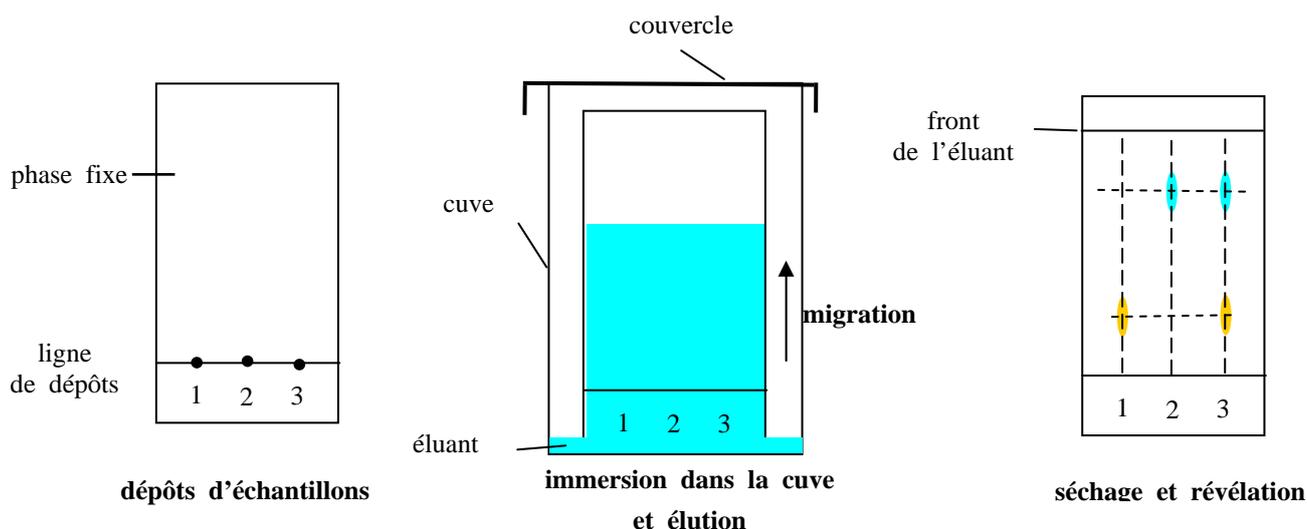
**Séchage** qui consiste à provoquer une évaporation rapide de l'éluant.

### ◆ Cinquième étape

Cette étape est réalisée seulement **dans le cas où les échantillons sont incolores**; c'est la **révélation**

Elle consiste à **faire apparaître les positions des taches sur le support** en utilisant diverses techniques, telles que l'utilisation d'une lampe à U.V, l'immersion de la plaque dans une atmosphère de vapeurs de diode, ou dans une solution de permanganate de potassium, ....

Dans le cas d'une chromatographie de colorants, l'étape de révélation est inutile, les positions finales des taches étant visibles.



## 5. Interprétation d'un chromatogramme

### Exemple

Sur la figure ci-après est schématisé le chromatogramme obtenu en déposant **deux échantillons de corps purs connus 1 et 2**, qui sont les **espèces chimiques de référence** et un **échantillon inconnu 3**.

Interpréter le chromatogramme.

L'interprétation du chromatogramme consiste à déterminer :

- si l'échantillon 3 est pur ou bien si c'est un mélange ;
- à identifier dans le cas d'un mélange, ses constituants.

### Raisonnement

Une lecture verticale :

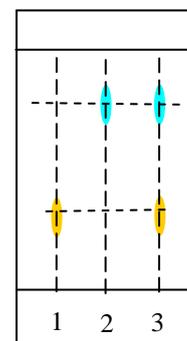
- ◆ confirme la pureté des échantillons de référence 1 et 2 (présence d'une seule tache sur les lignes verticales de ces échantillons);
- ◆ nous informe que 3 est un mélange d'au moins deux espèces chimiques (une troisième espèce chimique pourrait éventuellement être présente mais non révélée).

Une lecture horizontale :

- ◆ montre qu'une tache de la ligne verticale 3 est au même niveau que la tache unique de l'échantillon 1 : on **identifie** ainsi la présence du corps pur 1 dans l'échantillon 3.
- ◆ montre qu'une tache de la ligne verticale 3 est au même niveau que la tache unique de l'échantillon 2 : on identifie ainsi la présence du corps pur 2 dans l'échantillon 3.

En conclusion :

**L'échantillon 3 contient au moins les corps purs 1 et 2.**



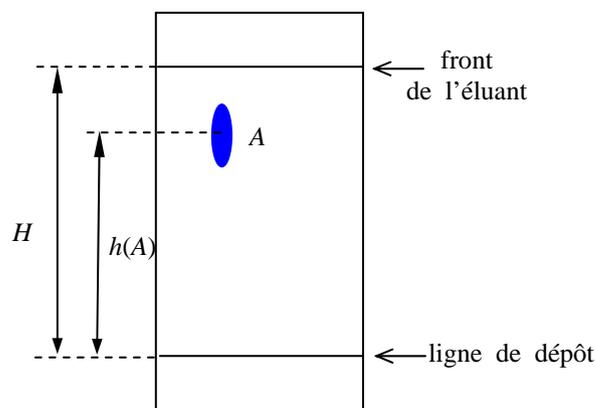
## 6. Notion de rapport frontal :

Le niveau de migration d'une espèce chimique A mise en jeu dans un chromatogramme, est défini par son **rapport frontal**, noté  $R_f(A)$  défini par la relation :

$$R_f(A) = \frac{h(A)}{H}$$

où :

- ◆  $h(A)$  est la distance **entre la ligne de dépôt et le milieu de la tache**;
- ◆  $H$  est la distance **entre la ligne de dépôt et le front de l'éluant**.



**Un rapport frontal n'a pas d'unité; il est, par définition, inférieur ou égal à 1.**

La valeur de  $R_f$  n'est pas caractéristique de l'espèce chimique correspondante : elle dépend, entre autres, de la nature de l'éluant, de la phase fixe, de la hauteur  $H$  correspondant au front de l'éluant.

$R_f$  ne permet d'identifier une espèce chimique **que pour une chromatographie donnée**.