

Chromatographie sur colonne

https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie_sur_colonne

La **chromatographie sur colonne** est fondée sur le même principe que la chromatographie sur couche mince, sauf que la silice ne se trouve pas sur une plaque mais dans une colonne. Cette technique est très utilisée dans la purification en chimie organique. La séparation des composés est provoquée par l'écoulement continu d'un éluant passant dans la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. Les composés sont entraînés par l'éluant à des vitesses différentes en fonction de leurs affinités avec la silice et avec l'éluant. Ce procédé permet de séparer les différents composants d'un produit mais aussi de purifier le produit d'une réaction.

Chromatographie sur colonne d'un sirop de menthe

La technique de **chromatographie sur colonne** repose sur le même principe que la chromatographie sur couche mince : les espèces chimiques à séparer sont plus ou moins entraînées par un éluant sur une phase fixe :

- La phase fixe est un solide, le plus souvent de la silice ou de l'alumine remplissant une colonne ;
- L'échantillon est déposé en haut de la colonne. La séparation des espèces chimiques est obtenue par l'écoulement continu d'une phase mobile (l'éluant) à travers la colonne.

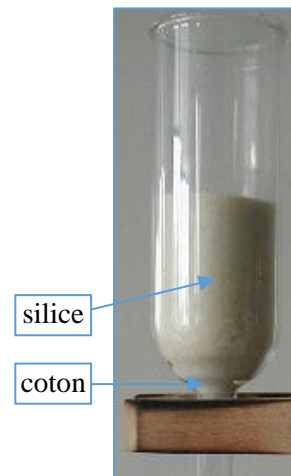
La séparation est basée sur une différence de vitesses d'entraînement des espèces chimiques vers le bas de la colonne. Contrairement à la CCM, cette méthode permet d'extraire les colorants du sirop de menthe ;

Préparation de la colonne (phase fixe)

L'opération de remplissage de la colonne conditionne l'efficacité de la séparation. Il ne faut pas qu'il y ait de bulles ou de zone sans phase stationnaire car on aurait alors des chemins préférentiels nuisant à une bonne séparation des composés. Pendant la phase d'élution avec le solvant on veillera également à ne pas assécher la partie supérieure de la phase fixe.

- Fixer verticalement la colonne à l'aide d'une pince ;
- Déposer un petit morceau de coton dans le bas de la colonne ;
- Peser environ 10 g de silice ;
- Introduire la silice dans la colonne ;
- Tapoter la colonne afin d'obtenir une surface plane de silice ;
- Placer un bécher sous la colonne ;

Introduire doucement de l'eau distillée (à l'aide d'une pipette plastique par écoulement de long de la paroi de la colonne). Ajouter une quantité d'eau suffisante pour être environ à 2 cm au-dessus de la surface plane de la silice.



Dépôt de l'échantillon de sirop de menthe, élution et récupération des colorants

- Déposer très doucement à l'aide d'une pipette, sans toucher les parois de la colonne, l'échantillon de sirop de menthe : attention à ne pas déformer la surface de la phase stationnaire pendant cette opération.
- Lorsque le sirop de menthe a pénétré à la surface de la phase stationnaire, éluer avec l'eau en remplissant la colonne. Lorsque le premier colorant arrive en bas de la colonne le récupérer dans une première cuve ; il s'agit de la tartrazine (jaune).
- Eluer ensuite avec un autre éluant : un mélange d'éthanol + eau salée. Lorsque le second colorant parvient en bas de la colonne, le récupérer dans une seconde cuve ; il s'agit du bleu patenté (bleu).