



Extraction de pigments et colorants

La chromatographie

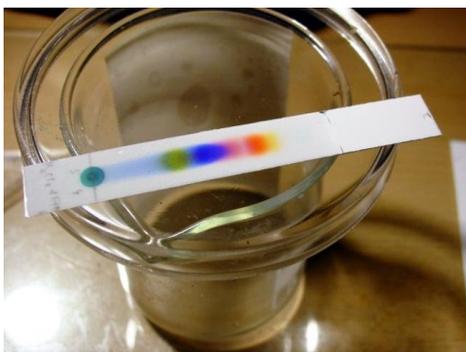
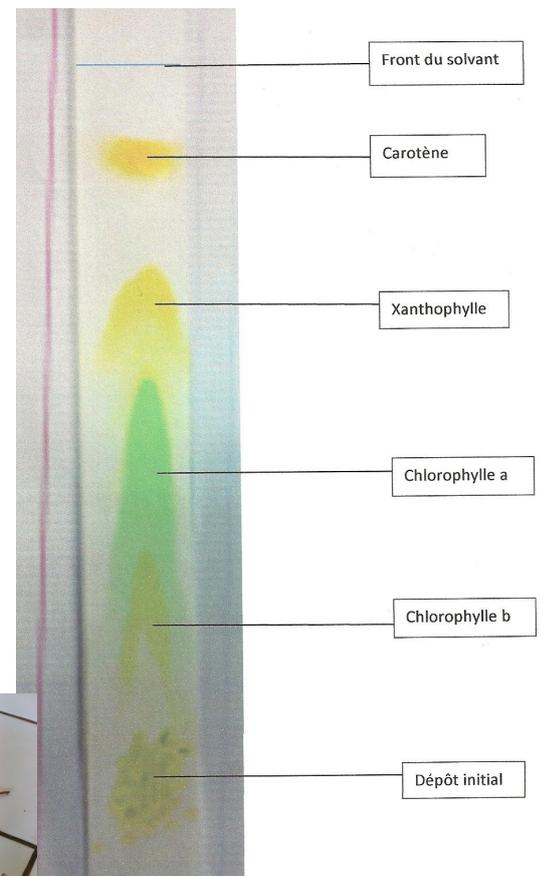
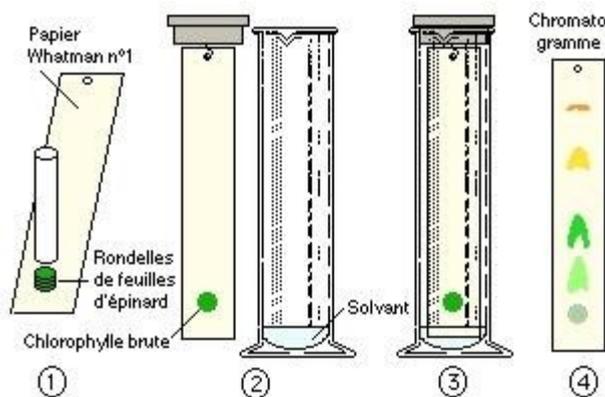
La première chromatographie a été réalisée en 1906 par le botaniste Mikhaïl Tswett et consistait à séparer les pigments d'une feuille d'épinard. On spécula l'étymologie du mot « chromatographie » à partir du grec *chrôma*- pour couleur et donc pigment. Toutefois, Tswett ne donna jamais cette explication, mais *tszett* est le mot russe pour « couleur ».

1 - Principe

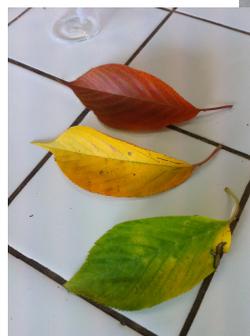
La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successives sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase.

- Etape 1 : préparation de la phase fixe
- Etape 2a : préparation de la phase mobile
- Etape 2b : dépôt des substances sur la phase fixe
- Etape 3 : élution
- Etape 4 : révélation

2 - Chromatographie sur couche mince (CCM)



CCM d'une encre noire
 Papier Whatman
 Eluant : eau + éthanol



CCM d'un extrait de feuille de cerisier
 Broyage dans l'acétone
 Papier Whatman
 Eluant : 85% éther de pétrole + 10% acétone
 + 5% cyclohexane



Remarque : les pigments étant sensibles à la lumière, il est souhaitable de réaliser l'éluion en entourant la cuve de papier aluminium ou Canson noir...

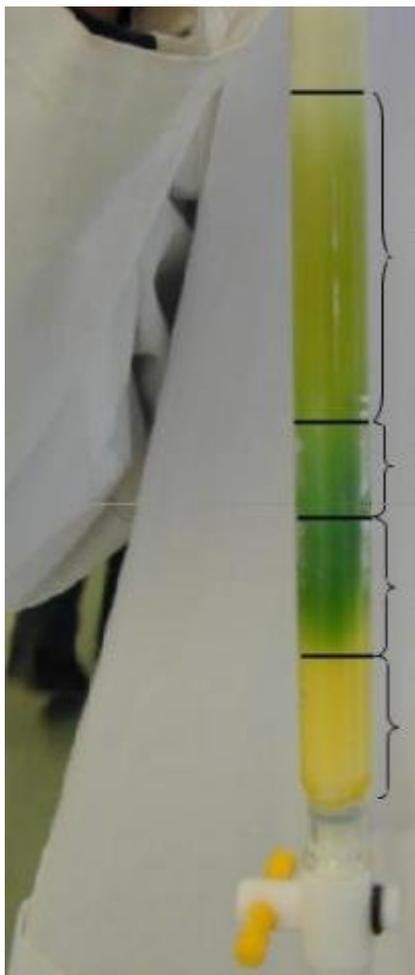
Changement de couleur des feuilles en automne : <http://feuilles-d-automne.blogspot.com/p/introduction-chaque-annee-en-cette.html>

3 – Chromatographie sur colonne

C'est une technique basée sur des phénomènes d'adsorption¹. La phase solide, le plus souvent d'alumine ou la silice, remplit une colonne de longueur et de section variables ; l'échantillon, en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression.

Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. La séparation dépend de l'éluant, de l'adsorbant, de la dimension de la colonne et de la vitesse d'éluion.

Pour les feuilles de cerisier, préalablement broyées au pilon et mortier en présence de sable fin et d'acétone :



chlorophylle b

lutéine (xanthophylle)

chlorophylle a

carotènes

L'éluant a été préparé à partir d'isopropanol et d'éther de pétrole. Celui-ci permet de mobiliser les pigments présents dans l'extrait d'épinard et de les faire migrer au travers d'une colonne de sucre en poudre.

¹ L'**adsorption**, à ne pas confondre avec l'absorption, est un phénomène de surface par lequel des atomes ou des molécules de gaz ou de liquides (**adsorbats**) se fixent sur une surface solide (**adsorbant**). Ce phénomène a une très grande importance dans l'évolution de nombreuses réactions chimiques.