

TP 2 Analyse de composés chimiques par chromatographie

Objectifs : Comprendre le principe de la chromatographie d'adsorption.

Etudier les différentes techniques de chromatographies :

- C.C.M (chromatographie sur couche mince).
- chromatographie sur colonne.

I. IDENTIFICATION du limonène et du citral par C.C.M. :

1) Principe de la C.C.M.

Initialement appliquée aux substances colorées (*kroma* signifie couleur en Grec), la chromatographie est une **méthode de séparation et d'identification des constituants d'un mélange**, en phase liquide ou gazeuse.

Les constituants d'un mélange, déposés sur une *phase fixe* solide (l'**adsorbant**) sont entraînés par une *phase mobile*, appelée **éluant**.

Dans la C.C.M., l'éluant est liquide et *migre par capillarité*; la phase fixe est constituée de *papier* ou d'une *fine couche de silice* ou d'alumine déposée sur une plaque.

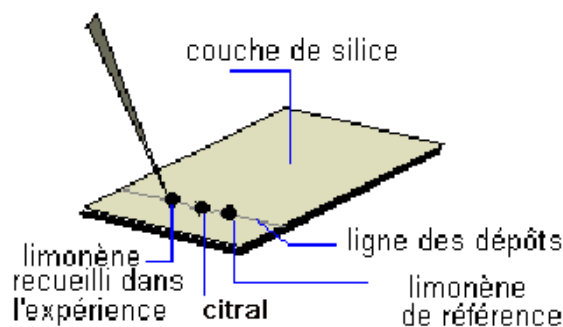
NB : le gel de *silice est polaire*.

La vitesse de migration des espèces dépend de leurs affinités avec l'éluant et avec l'adsorbant.

Plus la substance est *soluble dans l'éluant*, plus elle sera entraînée par celui-ci au cours de sa migration le long de l'adsorbant fixe.

L'éluant, qui ne doit pas réagir avec les constituants du mélange, est choisi en fonction de son aptitude à dissoudre les espèces à séparer.

Après migration, il faut faire apparaître les taches : c'est la **révélation** qui peut se faire chimiquement (grâce à un réactif caractéristique), ou par observation en lumière U.V si la silice contient un indicateur de fluorescence.



2) Préparation de la cuve à chromatographie

Dans un récipient fermé, verser l'**éluant** sur une hauteur de moins de 1 cm. Refermer le récipient pour permettre à son atmosphère de *se saturer en vapeur d'éluant*. *Eluant nocif et inflammable !*

Eluants utilisés : mélange 10% acétone et 90% cyclohexane

3) Chromatographie

Attention ! ne pas toucher la surface de plaque avec les doigts

Sur une plaque de silice, tracer au crayon un léger trait à 1 cm du bas de cette plaque : c'est la ligne de dépôt. Sur ce trait, on tracera 3 *marques régulièrement espacées* (de 1 cm au moins), identifiées en dessous par une lettre au crayon : E (pour l'extrait), L (pour le limonène pur), C (pour le citral pur)

Avec un *capillaire propre (ou pic apéritif)*, tenu bien *verticalement*, déposer les solutions suivantes : le dépôt ne doit pas faire plus de 2 mm de diamètre: – **extrait E** : plusieurs applications.

– **limonène L** (dilué dans du cyclohexane) : 1 application

– **citral C** (dilué dans du cyclohexane) : 1 application

Attendre que les dépôts soient secs avant de procéder à l'éluion.

Attention ! ne pas bouger la cuve, une fois que la plaque sera dedans !

Placer délicatement la plaque, la plus verticale possible, dans la cuve d'éluion et surveiller la montée de l'éluant. Lorsqu'il arrive à environ 1 cm du bord supérieur, retirer la plaque et marquer au crayon le niveau atteint par l'éluant (front de l'éluant).

Attention ! règle en plastique attaquée par ces éluants.

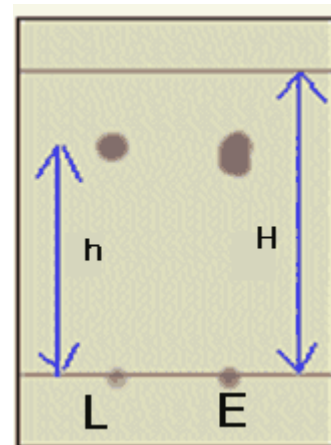
4) Révélation

➤ *1^{ère} méthode*: On plonge 2 s la plaque, silice vers le bas, dans une solution de *permanganate de potassium*.

On la rince et on la sèche. Les substances oxydées par le permanganate apparaissent sous forme de taches marron sur fond rose. *Marquer la position des taches en les entourant d'un trait de crayon.*

➤ *2^{ème} méthode* (utilisée ici) : *Révélation aux UV* :

On place la plaque sous une lampe UV: la silice étant recouverte d'un produit



photosensible à l'UV, les taches se distinguent de la couche de fond par une coloration sombre. *Marquer les taches au crayon.*

Rappel : le **rapport frontal R_f** d'une espèce est le rapport entre la hauteur de migration de cette espèce et la hauteur de migration de l'éluant.

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{distance parcourue par l'éluant}} = \frac{h}{H}$$

5) Questions:

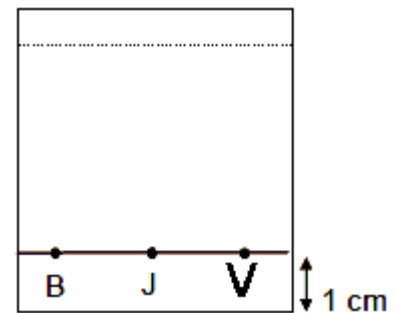
Analyser le chromatogramme, et tirer une conclusion sur : la composition de l'extrait E.

II. EXTRACTION DES COLORANTS DU SIROP DE MENTHE PAR C.C.M. :

Objectif : séparer et identifier les colorants d'un sirop de menthe par C.C.M.

Le sirop de menthe est une solution aqueuse contenant du sucre de canne, des extraits naturels de menthe et 2 colorants synthétiques (qui n'existent pas dans la nature): le **jaune tartrazine: E 102** le **bleu patenté: E 131**
Pour réaliser la chromatographie, il faut les extraire le sucre qui est gênant pour la chromatographie. Nous utiliserons donc un colorant vert « Vahiné » qui ne contient pas de sucre.

- Verser dans un bécher, 5 mL de l'éluant 1 (un peu d'éthanol et eau salée à 40 g.L-1).
- Couvrir avec le couvercle en verre et laisser en attente pour que l'intérieur du bécher se sature en vapeur d'éluant.
- Préparer la plaque CCM comme l'indique le schéma: tracer des traits "légers" au crayon pour ne pas abîmer la couche de silice.
- Avec une pique en bois légèrement écrasée, faire 3 dépôts:
 - en **B**, de colorant **E 131**
 - en **J**, de colorant **E 102**
 - en **V**, des colorants extraits du **sirop de menthe** (faire 5 ou 6 dépôts).
- Placer la plaque CCM dans le bécher et laisser évoluer jusqu'à ce que l'éluant arrive à environ 1 cm du haut de la plaque. Retirer la plaque et la faire sécher.



Question 1 : Que fait l'éluant dès que l'on y plonge la plaque CCM ?

Question 2 : Que fait l'éluant lorsqu'il entre en contact avec la ligne de dépôt ?

Question 3 : Pourquoi la ligne de dépôt doit-elle être placée initialement au-dessus de l'éluant ?

Question 4 : Combien de taches observe-t-on pour B ? J ? V ?

Question 5 : Le colorant vert contient-elle effectivement les deux colorants ? Pourquoi ?

- Faire 2 chromatographies avec : la plaque recouverte de gel de silice et avec la plaque de cellulose.

Question 6 : Calculer le rapport frontal R_f de chaque colorant pour une des 2 plaques (à votre choix)

Question 7 : De quels facteurs dépend le rapport frontal.

III. CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE du sirop de menthe :

La méthode utilisée est la **chromatographie sur colonne**.

- Introduire un petit morceau de coton dans le fond tube pour retenir la phase fixe ou utiliser la colonne mise à disposition.
- Remplir la colonne de silice. Tapoter la colonne afin d'obtenir une surface plane de silice ;
- Imprégner toute la colonne d'une solution saturée de chlorure de sodium (éluant). La colonne est prête quand le niveau de l'éluant arrive à la limite supérieure de l'alumine ;
- Avec un compte-goutte, déposer au haut du tube une dizaine de gouttes du colorant vert "Vahiné" sans toucher les parois du tube ;
- Laisser la migration se faire ;
- Lorsque le sirop de menthe a pénétré à la surface de la phase stationnaire, éluer en versant de l'eau salée ; la colonne ne doit jamais sécher.

Question 1 : Faire un schéma de la colonne avant de recueillir le premier colorant.

Question 2 : Quels sont l'ordre et les couleurs des colorants recueillis ?

Question 3 : Quel est l'avantage de la chromatographie sur colonne par rapport aux autres chromatographies ?

- Récupérer chaque colorant dans un bécher différent.

- Lorsque la chromatographie est terminée, laver l'alumine avec de l'eau. L'alumine sera récupérée et séchée.

