

T.P. C13 : La chromatographie : une méthode de séparation et d'identification

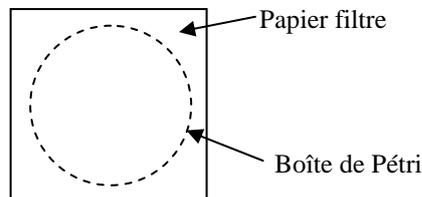
Dans ce T.P., on s'intéresse à la chromatographie, méthode de séparation et, d'identification des espèces chimiques, très utilisée en chimie. Dans un premier temps, nous allons en étudier le principe et les propriétés. Puis, nous appliquerons cette méthode à la recherche des espèces chimiques présentes dans l'huile essentielle de lavande synthétisée au précédent T.P.

Pour des raisons de temps, l'ordre des manipulations est : 28, 12-18, 1-11, 19-27, 29-36. Les solutions et ustensiles marqués d'une étoile : * se trouvent sur la grande table centrale.

On se munira de lunettes et de gants. dès le début du TP.

I.- Principe et propriétés de la chromatographie

1.1. : Principe de la chromatographie



E.1. : Prendre un capillaire* et en limer l'extrémité sur une lime de carton, de façon à la rendre plane. A défaut, prendre un cure-dent* dont on courbera l'extrémité en l'appuyant sur une table.

E.2. : Prendre un carré de papier filtre* et le poser dans la boîte de pétri.

E.3. : Prélever du colorant bleu (solution aqueuse à 2 g/L de E131) à l'aide du capillaire ou du cure-dent, et faire un dépôt au centre du papier filtre, de façon à obtenir une tache colorée de diamètre voisin de 0,5 cm (on ne dépassera pas cette valeur).

E.4. : Verser de l'eau salée (eau du robinet mélangée à 25 g/L de sel de cuisine) dans le fond du verre à pied.

E.5. : En prélever à l'aide d'une pipette Pasteur (c'est une toute petite pipette).

E.6. : Déposer une goutte d'eau salée prélevée **exactement** au centre de la tache bleue précédente. Recommencer l'opération environ 12 fois, en n'attendant jamais trop entre deux dépôts consécutifs.

Q.7. : Qu'observe-t-on au fur et à mesure que l'on apporte de l'eau salée ? Pourquoi ne doit-on pas attendre entre deux dépôts d'eau salée ?

S.8. : Faire un schéma de ce que l'on observe sur le papier filtre avant le dépôt de la première goutte d'eau salée et quand la dernière goutte d'eau salée a été déposée.

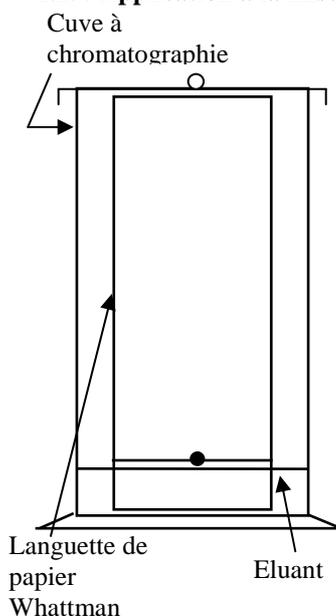
E.9. : Reprendre les manipulations E.1. à E.6. (sauf E.4. s'il vous reste assez d'eau salée pour recommencer), en remplaçant le colorant bleu par un colorant vert.

Q.10. : Qu'observe-t-on au fur et à mesure que l'on apporte de l'eau salée ? Pouvait-on s'y attendre ?

S.11. : Faire un schéma de ce que vous observez sur le papier filtre avant le dépôt de la première goutte d'eau salée et quand la dernière goutte d'eau salée a été déposée. Identifier les traces colorées à l'aide de la composition de la solution « colorant vert » qui est identique à celle qu'on peut lire sur l'étiquette du sirop de menthe : 2 g/L de E131 (*Bleu patenté V*) et 2 g/L de E102 (*Tartrazine*).

Q.12. : Quel critère pourrait-on envisager pour caractériser la migration d'un composé coloré sur la feuille de papier filtre ?

1.2. : Application à la mise en évidence des composants colorés d'un feutre marron ou d'un feutre noir.



E.12. : Verser de l'eau salée à 25 g/L, sur une hauteur d'environ 0,8 cm, dans la grande cuve à chromatographie et la refermer.

E.13. : Prendre une grande languette de papier Whatman* et faire au crayon à papier (**surtout pas au critérium!**) un trait horizontal (parallèle à son petit côté) à environ 1,5 cm du bas. Y faire une croix en son centre.

E.14. : Déposer sur cette croix une tache faite au feutre noir* à encre soluble ou au feutre marron* à encre soluble. Noter au crayon à papier N (pour noir) ou M (pour marron) selon le cas, en haut de la languette de papier.

E.15. : Placer ce chromatogramme, trait vers le bas, le long de la cuve en le fixant au couvercle à l'aide d'un morceau de scotch. Vérifier que la languette trempe dans l'éluant et que la ligne avec le dépôt coloré se trouve au dessus du niveau de l'éluant (liquide qui sert à provoquer l'élution (= la migration) des composants colorés du dépôt). Le chromatogramme doit être quasi vertical (il ne doit pas onduler). Désormais, **on ne bougera plus la cuve!**

Q.16. : Qu'observe-t-on ? L'élution étant très lente, on pourra y jeter un œil de temps à autre au cours du TP. Repasser au début du T.P.

E.17. : Quand l'élution semble terminée (ce sera vers la fin de la séance de TP), sortir le chromatogramme de la cuve. Marquer au crayon le niveau auquel est arrivé l'éluant.

Q.18. : Quelles remarques peut-on faire ? Donner des interprétations.

1.3. : Propriétés de la chromatographie.

Nous venons de voir que si l'on dépose une goutte d'un mélange liquide de différentes espèces chimiques sur du papier filtre ou Whatman (phase fixe), et que l'on trempe ce papier dans un fond d'éluant (phase mobile) ou que l'on en dépose quelques gouttes sur la tache constituée du mélange, alors la phase mobile **élue** = entraîne les constituants du mélange avec elle, à des vitesses différentes pour chacune des espèces chimiques. Ainsi, dans la première expérience, on a pu séparer le colorant jaune

et le colorant bleu, tous les deux présents dans la solution de colorant vert, et dans la seconde, on a pu séparer les différents colorants présents dans les feutres noir ou marron. Séparer les espèces chimiques d'un mélange permet de savoir quel est leur nombre, mais ne permet pas de les identifier. Dans l'expérience suivante, nous allons mettre en évidence une propriété importante de la migration d'une espèce chimique pour une phase fixe (support) et pour une phase mobile (ou éluant) données.

E.19. : Remplir le fond de la petite cuve à chromatographie avec de l'eau salée, sur une hauteur inférieure à 0,9 cm. La refermer et ne plus la déplacer.

E.20. : Prendre une languette de papier Whattman* de dimensions 3 cm x 8 cm, sur laquelle on tracera un trait horizontal au crayon à papier à un peu plus de 1 cm du bas. Faire sur ce trait trois croix régulièrement espacées. En haut de la languette, noter au crayon ce à quoi correspondront chacune des futures taches, soit de gauche à droite : colorant vert ou V, colorant bleu ou B, colorant jaune ou J.

E.21. : Faire sur chacune des croix, de gauche à droite, un dépôt de colorant vert, de colorant bleu, et de colorant jaune, toujours prélevés à l'aide de capillaires ou cure-dents (éventuellement réitérer l'application de chaque dépôt afin de concentrer le produit mais **sans élargir la tache**).

E.22. : Placer délicatement le chromatogramme dans la cuve comme en E.15. **On ne déplacera plus cette dernière** (en particulier, on prendra garde à ne pas lui donner des coups de coude, etc) **jusqu'à la fin de l'éluant**.

Q.23. : Qu'observe-t-on au cours de l'éluant ?

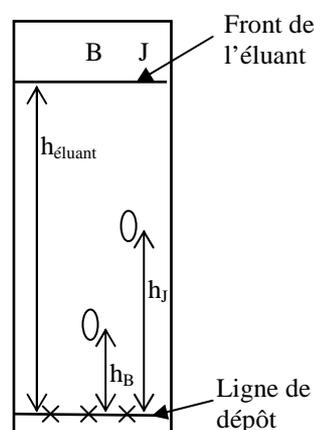
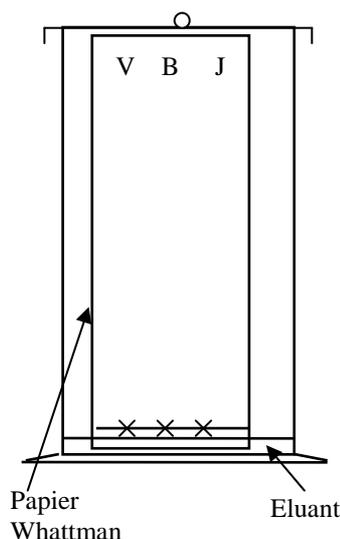
E.24. : Quand l'éluant arrive à proximité (1 cm) du haut du papier, retirer le papier de la cuve et noter au crayon la position du front de l'éluant, ainsi que celles des différentes taches, en les entourant.

S.25. : Si l'on ne conserve pas le chromatogramme obtenu, faire un schéma de ce que l'on observe sur le papier, à la fin de l'éluant. Sinon, coller le chromatogramme dans le compte-rendu.

Q.26. : Soit h_B et h_J , la hauteur, mesurée à partir du trait horizontal, à laquelle se trouve l'espèce chimique colorant bleu ou colorant jaune sur le chromatogramme final, et $h_{\text{éluant}}$ la hauteur, mesurée aussi à partir du trait horizontal, à laquelle correspond le front de l'éluant (niveau où est arrivé l'éluant lorsqu'on a sorti la bande de papier de la cuve). Que peut-on dire de h_B et de h_J pour le colorant vert et pour les deux colorants bleu et jaune ? Conclusion ?

On appellera R_f le rapport frontal : $R_f = h_i/h_{\text{éluant}}$. Déterminer les rapports frontaux de chaque colorant.

Q.27. : Comment appliquer le principe de la chromatographie à l'identification d'espèces chimiques ?



II.- Analyse de l'extrait d'huile essentielle de clou de girofle par C.C.M.

E.28. : Préparer une cuve à chromatographie en y versant environ 1 cm de hauteur d'éluant (mélange 1 volume acétate d'éthyle pour 5 volume hexane) prélevé sous la hotte et en refermant son couvercle.

E.29. : Sur une plaque à chromatographie (support en plastique recouvert d'une fine couche de gel de silice), tracer une ligne de dépôt à environ 1,5 cm du bas de la plaque (cette ligne doit se trouver au-dessus du niveau de l'éluant) et tracer deux croix au crayon.

E.30. : En haut de la plaque, noter le nom des deux dépôts :

* EO : extrait obtenu lors du T.P. C2

*M : macération de clou de girofle dans l'hexane

* E : Eugénol

E.31. : Pour chaque dépôt, déposer 2 à 3 gouttes en séchant entre chaque application. Vérifier la présence de dépôts sous la lampe à UV.

E.32. : Placer délicatement la plaque à chromatographie dans la cuve. Refermer cette dernière et ne plus la déplacer.

E.33. : Laisser éluer pendant 5 à 10 min. Arrêter l'éluant lorsque le front de l'éluant arrive à environ 1 cm du bord supérieur de la plaque. Noter alors, au crayon, la position du front de l'éluant.

Q.34. : Qu'observe-t-on ?

E.35. : Sécher la plaque en l'agitant à l'air.

E.36. : **Les espèces chimiques déposées étant incolores, on doit révéler le chromatogramme** : pour cela, on utilise la révélation chimique au permanganate de potassium.

E.37. : Tenir la plaque par le bord supérieur, la plonger d'un seul geste dans une solution de permanganate de potassium contenue dans un bécher et la retirer rapidement. L'égoutter en position verticale sur un papier essuie tout et la sécher au sèche-cheveux. Marquer au crayon de papier la position des taches dès leur apparition.

S.38. : Faire un schéma du chromatogramme obtenu.

Q.39. : Qu'observe-t-on ? Conclure quant à la composition de l'huile essentielle de clou de girofle.

Q.40. : Calculer le R_f de l'eugénol.

T.P. C 3 : La chromatographie sur couche mince (C.C.M.) : une méthode de séparation et d'identification

Poste central

- Capillaires ou cure-dents
- Carré de papier filtre (10 cm * 10 cm)
- 3 * 250 mL solutions de colorant alimentaire bleu E131, jaune E102 et vert : 2g.L^{-1}
- Languettes de papier Whattman + scotch
- Plaques de chromatographie
- Feutres solubles noir ou marron
- Dichlorométhane (**sous la hotte**)

Paillasse élèves

- Boîte de Pétri
- 250 mL solution (Na^+ (aq), Cl^- (aq)) à 25 g.L^{-1}
- Verre à pied
- Pipettes pasteur
- 3 cuves à chromatographie (pot de confiture)
- 1 bécher de forme haute rempli de solution de permanganate de potassium ($0,005\text{ mol.L}^{-1}$) pour la révélation
- Papier essuie tout à proximité du bécher
- Sèche cheveux à proximité du bécher.