

T.P. C2 : Caractérisations par chromatographie sur couche mince C.C.M.

Objectif : Extraire et analyser les colorants d'un sirop par C.C.M. Analyser une substance par C.C.M.

I.- Chromatographie des colorants d'un sirop

1) Extraction des colorants

Afin de pouvoir identifier les colorants présents dans un sirop de menthe, il faut les extraire du sirop car le sucre perturbe la future chromatographie.

N'ayant pu obtenir de la laine écrue sur Dakar, nous utiliserons des poils du chien de Mme Talon préalablement lavés dans un bain de solution d'ammoniac.

E.1. : Dans un bécher de 150 mL, introduire une touffe de poils puis environ 20 mL de sirop de menthe et enfin 5 mL de vinaigre blanc.

E.2. : Porter le mélange à **ébullition douce** pendant 10 minutes tout en agitant régulièrement.

Q.3. : L'espèce contenue dans le vinaigre est l'acide éthanoïque. Donner sa formule semi-développée ainsi que le couple acide / base auquel il participe. Ecrire la demi-équation associée.

Q.4. : On donne la formule topologique très simplifiée de la kératine, protéine présente dans la laine :

(L désigne un motif très long)

Quelles sont les deux groupes caractéristiques présents dans cette molécule.

Q.5. : Donner les formes que prend cette molécule en milieu très acide puis en milieu très basique.

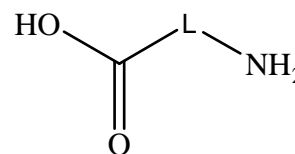
E.6. : A l'aide d'un agitateur en verre, retirer les poils et les rincer abondamment à l'eau. Que constate-t-on ?

Q.7. : Sachant que les colorants à extraire sont anioniques, justifier l'observation précédente.

E.8. : Introduire les poils dans un bécher contenant 15 mL de solution d'ammoniac et porter à ébullition douce pendant 10 minutes. Que constate-t-on ?

Q.9. : Sachant que la solution d'ammoniac est basique, justifier l'observation précédente.

E.10. : Retirer les poils, les essorer et poursuivre l'ébullition afin de concentrer la solution.



2) Identification des colorants

Pour caractériser les colorants du sirop, on va les comparer à des colorants alimentaires disponibles facilement dans le commerce : le colorant jaune ou tartrazine (E 102) et le colorant bleu patenté (E131).

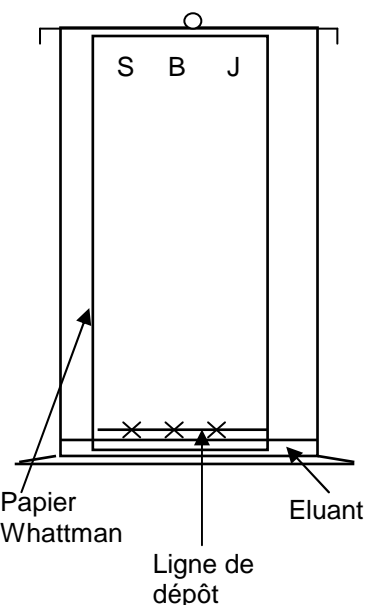
E.11. : Remplir le fond de la petite cuve à chromatographie avec de l'eau salée, sur une hauteur égale à 0,5 cm. La refermer et ne plus la déplacer.

E.12. : Prendre une languette de papier Whatman* 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 (appelé **ligne de dépôt**). 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 du sirop ou S, colorant bleu ou B, colorant jaune ou J.

E.13. : Faire sur chacune des croix, de gauche à droite, un dépôt de colorant vert, de colorant bleu, et de colorant jaune, prélevés à l'aide de cure-dents à pointe aplatie (éventuellement réitérer l'application de chaque dépôt afin de concentrer le produit mais **sans élargir la tache : 2 à 3 mm de diamètre au maximum**).

E.14. : Placer délicatement la languette dans la cuve en scotchant le haut sur une boîte de Pétri. La plaque de chromatographie ne doit pas être pliée et son extrémité doit plonger dans l'éluant. **On ne déplacera plus la cuve** (en particulier, on prendra garde à ne pas lui donner des coups de coude, etc) **jusqu'à la fin de l'éluant**.

Q.15. : Qu'observe-t-on au cours de l'éluant ?



E.16.: Quand l'éluant arrive à proximité (0,5 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.

2) Exploitation du chromatogramme

S.17. : Coller le chromatogramme (ou insérer une photo) sur le compte-rendu.

Q.18. : Soit h_B et h_J , la hauteur, mesurée à partir de la ligne de dépôt, 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 de la ligne de dépôt, 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). Noter ces valeurs.

Q.19. : Faire de même pour les taches du colorant vert (on notera h_1 et h_2). Que peut-on dire de h_1 et de h_2 pour le colorant vert par rapport aux deux colorants bleu et jaune ? Conclusion ?

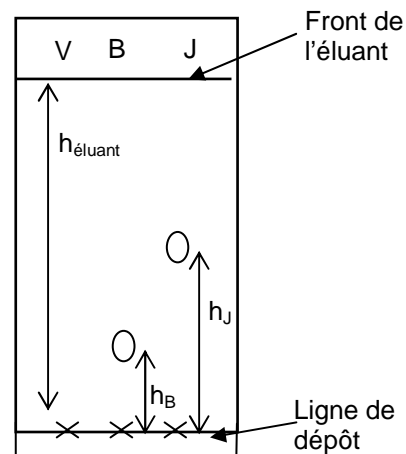
C.20. : On appellera R_f le rapport frontal : $R_f = h_i/h_{\text{éluant}}$. Déterminer les rapports frontaux de chaque colorant.

Q.21.: Comment appliquer le principe de la chromatographie à l'identification d'espèces chimiques ?

C.22. : Nous venons de voir que si l'on dépose une goutte d'un mélange liquide de différentes espèces chimiques sur du papier filtre ou Whattman (**phase stationnaire ou fixe**), et que l'on trempe ce papier dans un fond de solvant appelé : **éluant (phase mobile)**, alors la phase mobile **migre dans la phase fixe** par capillarité en entraînant les différentes espèces du mélange avec elle, à des vitesses différentes pour chacune d'elle :

- les espèces chimiques plus solubles dans la phase stationnaire migrant le plus
- les espèces chimiques plus solubles dans la phase fixe migrant le moins

On peut ainsi analyser les différentes espèces d'un même mélange et les identifier par comparaison. Par contre, on ne peut pas les récupérer. Il faut pour cela utiliser la chromatographie sur colonne.



II.- Identification des espèces chimiques dans l'huile essentielle d'écorce d'agrume par C.C.M.

1) Elution

E.14. : Sentir l'huile essentielle précédemment synthétisée. Que vous rappelle cette odeur ?

E.15. : Préparer la plaque de chromatographie (ici une plaque d'aluminium recouverte de gel de silice SiO_2) : sans toucher à la surface blanche, tracer un trait à 1,0 cm du bord inférieur appelé **ligne de dépôt**. Sur celui-ci, tracer 4 croix correspondant chacune à 4 dépôts : L, C, E et O :

L : solution de limonène dans le cyclohexane

C : solution de citral dans le cyclohexane

E : huile essentielle extraite

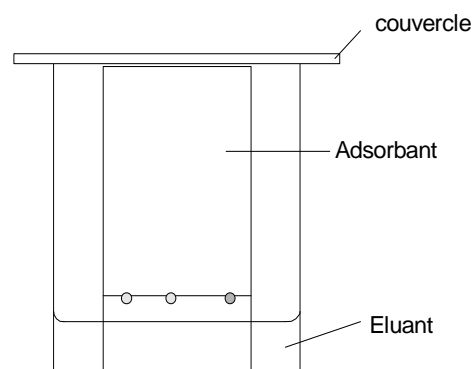
O : arôme commercial d'orange

Déposer les échantillons sur la plaque de CCM au niveau de la ligne de dépôt sur les croix à l'aide d'un cure-dent dont on aura aplati la pointe (**les dépôts doivent être fins : pas plus de 2-3 mm de diamètre !!!**). Il est nécessaire de repasser une 2^{ème} fois sur une même croix afin de concentrer les dépôts (on pourra vérifier leur présence à la lampe à UV). **Réaliser soigneusement cette partie.**

E.16. : Pendant que l'un des membres du binôme prépare les dépôts, l'autre va préparer la cuve à chromatographie qui sera réalisée avec l'éluant : mélange acétone/cyclohexane : 10/90 (rapport en volumes).

E.17. : Verser l'éluant dans la cuve sous la hotte sur une hauteur de 0,5 cm et la couvrir avec une boîte de Petri (pour saturer la cuve en vapeur d'éluant). Au bout d'une dizaine de minutes la cuve est prête.

E.18. : Réaliser l'éluution de la plaque jusqu'à ce que l'éluant arrive à 0,5 cm du bord supérieur de la plaque. Sortir ensuite la plaque à l'aide sans toucher la surface recouverte de silice et marquer le front de l'éluant au crayon à papier. Sécher la plaque au sèche-cheveux



2) Révélation du chromatogramme

Les espèces chimiques en présences sont ici incolores : il faut utiliser une méthode pour révéler les taches : la lampe U.V. est ici toute indiquée car les espèces présentes absorbent une partie de cette lumière et apparaissent sous forme de taches sombres.

E.19. : Révéler la plaque sous la lampe à U.V. et entourer les taches obtenues **aux deux longueurs d'onde**.

E.20. : On utilise aussi une révélation chimique en plongeant la plaque tenue par une pince en bois dans le bécher contenant une solution de permanganate de potassium ou une cuve contenant du diiode.

S.20. : Coller les chromatogrammes obtenus.

Q.21. : Calculer les rapports frontaux des différentes taches.

Q.22. : Interpréter le chromatogramme obtenu.

2) Révélation du chromatogramme

Les espèces chimiques en présences sont ici incolores : il faut utiliser une méthode pour révéler les taches : la lampe U.V. est ici toute indiquée car les espèces présentes absorbent une partie de cette lumière et apparaissent sous forme de taches sombres.

E.19. : Révéler la plaque sous la lampe à U.V. et entourer les taches obtenues **aux deux longueurs d'onde**.

E.20. : On utilise aussi une révélation chimique en plongeant la plaque tenue par une pince en bois dans le bécher contenant une solution de permanganate de potassium ou une cuve contenant du diiode.

S.20. : Coller les chromatogrammes obtenus.

Q.21. : Calculer les rapports frontaux des différentes taches.

Q.22. : Interpréter le chromatogramme obtenu.

2) Révélation du chromatogramme

Les espèces chimiques en présences sont ici incolores : il faut utiliser une méthode pour révéler les taches : la lampe U.V. est ici toute indiquée car les espèces présentes absorbent une partie de cette lumière et apparaissent sous forme de taches sombres.

E.19. : Révéler la plaque sous la lampe à U.V. et entourer les taches obtenues **aux deux longueurs d'onde**.

E.20. : On utilise aussi une révélation chimique en plongeant la plaque tenue par une pince en bois dans le bécher contenant une solution de permanganate de potassium ou une cuve contenant du diiode.

S.20. : Coller les chromatogrammes obtenus.

Q.21. : Calculer les rapports frontaux des différentes taches.

Q.22. : Interpréter le chromatogramme obtenu.

2) Révélation du chromatogramme

Les espèces chimiques en présences sont ici incolores : il faut utiliser une méthode pour révéler les taches : la lampe U.V. est ici toute indiquée car les espèces présentes absorbent une partie de cette lumière et apparaissent sous forme de taches sombres.

E.19. : Révéler la plaque sous la lampe à U.V. et entourer les taches obtenues **aux deux longueurs d'onde**.

E.20. : On utilise aussi une révélation chimique en plongeant la plaque tenue par une pince en bois dans le bécher contenant une solution de permanganate de potassium ou une cuve contenant du diiode.

S.20. : Coller les chromatogrammes obtenus.

Q.21. : Calculer les rapports frontaux des différentes taches.

Q.22. : Interpréter le chromatogramme obtenu.