

Faculté des sciences exactes et informatique

Département de Chimie

3^{ème} année chimie analytique**TP/Problèmes d'analyse réelle II****TP I : Chromatographie sur colonne.****Séparer et identifier les colorants d'un sirop de menthe.****Objectifs :** Séparer et identifier les colorants d'un sirop de menthe.

I- Introduction : Le sirop de menthe est une boisson sucrée et aromatisée à base de menthe, souvent utilisée pour préparer des boissons rafraîchissantes. On peut le mélanger avec de l'eau pour créer une menthe à l'eau, ou l'utiliser comme ingrédient dans des cocktails, desserts, ou même des recettes de cuisine.

La chromatographie sur colonne est une technique utilisée pour séparer et purifier les composés chimiques d'un mélange. C'est une méthode couramment employée en chimie organique et analytique, notamment dans les laboratoires de recherche.

La chromatographie sur colonne repose sur l'interaction entre une phase mobile (liquide ou gazeuse) et une phase stationnaire (solide) à travers laquelle le mélange à séparer est passé.

Phase stationnaire : Généralement constituée d'un matériau solide, tel que de la silice (SiO_2) ou de l'alumine (Al_2O_3), qui est insérée dans une colonne cylindrique (souvent en verre ou en plastique).

Phase mobile : Un solvant ou mélange de solvants (appelé éluant) qui transporte les composés du mélange à travers la phase stationnaire.

Séparation : Les composés interagissent différemment avec la phase stationnaire selon leur polarité, leur taille ou leur affinité chimique. Les molécules qui interagissent fortement avec la phase stationnaire migrent lentement, tandis que celles qui interagissent faiblement migrent plus rapidement, entraînant une séparation.

II- Matériel nécessaire

Sirop de menthe (à analyser), Colonne chromatographique (en verre ou en plastique, avec robinet)

Phase stationnaire : silice ou alumine (silice préférée pour colorants hydrosolubles)

Phase mobile : mélange de solvants (ex. : éthanol/eau, ou acétone/eau selon la polarité des colorants)

Échantillon de colorants purs (standards de comparaison, si disponibles)

Bécher (de 50 mL à 250 mL), Pipettes ou seringues pour appliquer l'échantillon, Papier filtre ou coton pour le fond de la colonne, Fioles pour collecter les fractions

UV-Vis (si disponible) ou spectrophotomètre pour l'identification

Papier chromatographique (en option pour TLC - Chromatographie sur couche mince CCM)

III- Protocole expérimental

1. Préparation de l'échantillon

Diluer 1 mL de sirop de menthe dans 10-20 mL d'eau distillée pour éviter tout colmatage de la colonne par les sucres. Filtrer le mélange pour éliminer les particules solides (si nécessaire).

2. Préparation de la colonne chromatographique

Montage de la colonne :

Installer un robinet fonctionnel en bas de la colonne. Insérer un bouchon de coton ou un disque de papier filtre au fond pour empêcher la perte de la phase stationnaire.

Remplissage de la colonne :

Ajouter la silice ou l'alumine (phase stationnaire) dans la colonne jusqu'à une hauteur de 10-15 cm.

Compactez doucement la phase stationnaire en tapotant la colonne tout en ajoutant un peu de solvant (phase mobile). S'assurer qu'il n'y ait pas de bulles d'air.

Conditionnement :

Faire passer 10-20 mL de solvant (phase mobile) à travers la colonne pour stabiliser la phase stationnaire.

Attention !!! : veiller à ce que la colonne ne soit jamais sèche.

3. Application de l'échantillon

Déposer délicatement 2-3 mL de l'échantillon dilué sur le dessus de la colonne. Laisser pénétrer l'échantillon dans la phase stationnaire sans faire couler la phase mobile.

4. Éluion des colorants

Ajouter progressivement le solvant (phase mobile) dans la colonne. Régler le débit à environ 1 goutte/seconde pour une séparation optimale. Collecter les fractions dans des fioles distinctes (par exemple, toutes les 5-10 mL).

5. Observation et identification des colorants

Observer les bandes colorées se séparant dans la colonne.

Tester chaque fraction collectée avec : UV-Vis : Mesurer les spectres d'absorption pour chaque fraction et comparer avec des standards ou une base de données de colorants.

Chromatographie sur couche mince (TLC ou CCM) :

Déposer une goutte de chaque fraction sur une plaque TLC (CCM).

Développer la plaque avec le même solvant utilisé pour la colonne.

Comparer les R_f des spots obtenus.

Remarques importantes

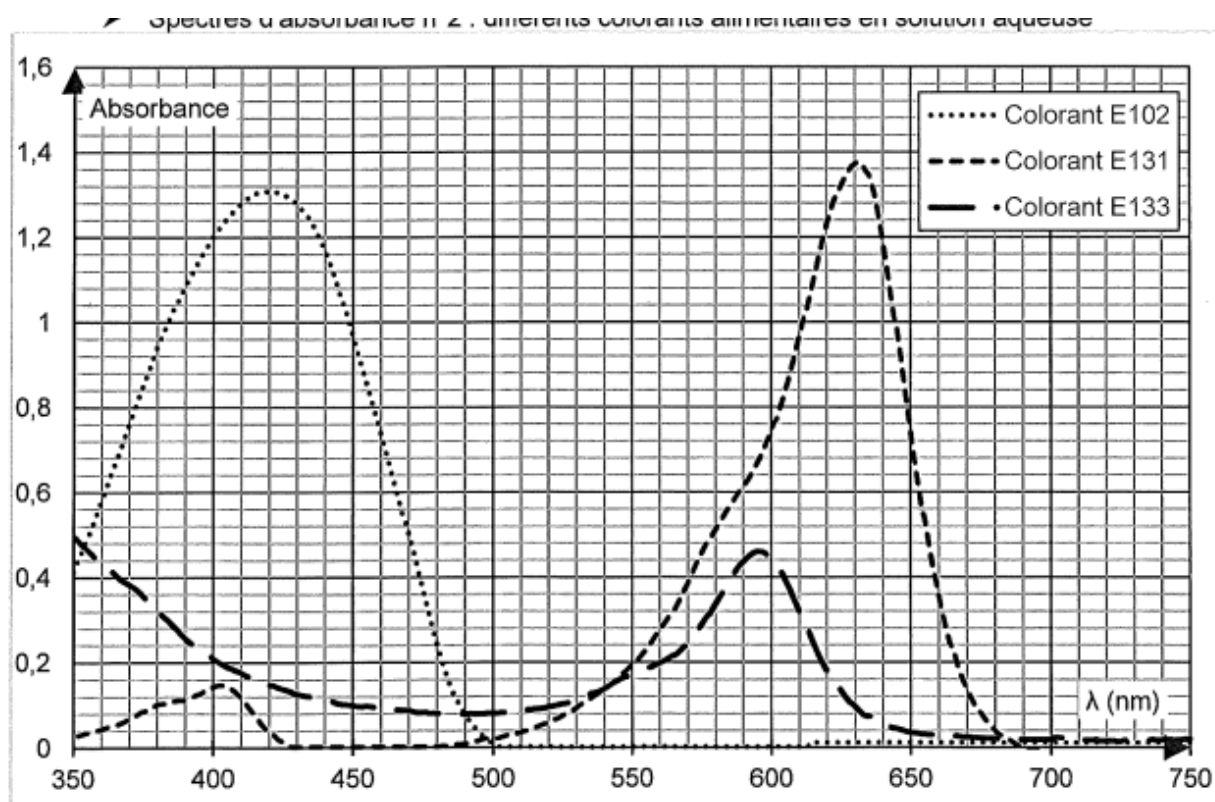
Les colorants alimentaires dans les sirops sont généralement hydrosolubles (ex. : E102, E110, E133). Adaptez la phase mobile pour optimiser la séparation selon les polarités des colorants.

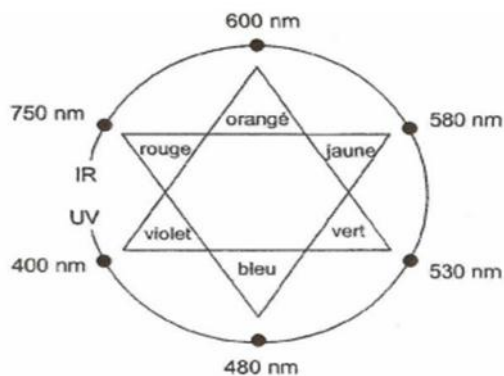
Si plusieurs solvants sont nécessaires, essayez des gradients (ex. : eau à éthanol, ou acétone/eau).

Si des pics sont mal résolus, diminuer le débit d'élution ou ajuster la polarité du solvant.

Rappel :

Une solution est colorée si elle absorbe une partie des radiations de la lumière blanche. Sur l'étoile ci-contre, la couleur perçue (c'est-à-dire la couleur de la solution) est la couleur diamétralement opposée à la couleur de la solution.





IV- QUESTIONS

- 1- Faire un schéma annoté de la manipulation
- 2- Quel est le rôle du filtre dans la colonne
- 3- Pourquoi ne faut-il pas de bulle d'air ?
- 4- Quelles sont les teintes des solutions recueillies ?
- 5- Quel est l'éluant du premier colorant ?
- 6- Le second colorant est-il plus soluble dans l'eau ou dans l'éthanol ?
- 7- Déduire des spectres d'absorption, après comparaison avec les spectres ci-après, la nature des constituants composant le colorant étudié.
- 8- Justifier la couleur de chacun.
- 9- La dilution d'une solution modifie-t-elle l'allure de son spectre d'absorption ?

Justifier.

BOUDJERDA ABDELHAMID