

TP 6: CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE.

Extraire et identifier des espèces chimiques.

Objectifs : Séparer et identifier les colorants d'un sirop de menthe.

La chromatographie sur colonne est une *chromatographie d'adsorption*. L'adsorption consiste en la formation de liaisons entre les molécules d'un composé et celles de la substance adsorbante.

La phase stationnaire est un solide, le plus souvent *silice ou alumine* remplissant une colonne.

L'échantillon est déposé en haut de la colonne. La séparation des espèces chimiques est obtenue par l'écoulement continu d'une *phase mobile, ou éluant*, à travers la colonne.

La séparation est basée sur les différences de vitesses d'entraînement, vers le bas de la colonne, des substances contenant l'échantillon. Ces vitesses dépendent de la capacité d'adsorption de l'espèce par la phase stationnaire, et de la solubilité de cette espèce dans l'éluant.

<u>Matériel :</u> -colonne - pipette pasteur - tige métallique - coton - 2 béchers de 50 mL - spectrophotomètre + cuves	<u>Produits :</u> - sirop de menthe - gel de silice - pissette d'eau distillée - éthanol à 95 % - un flacon contenant le colorant E 102 (tartrazine) - un flacon contenant le colorant E 131 (bleu patenté)
---	---

I) Principe.

L'échantillon est déposé en haut de la colonne.

La phase fixe est de la silice (ou de l'alumine), l'éluant s'écoule du haut vers le bas de la colonne.

La séparation est basée sur la différence des vitesses d'entraînement des substances contenues dans l'échantillon.

L'éluant migre grâce à la gravité et non par capillarité.

II) Préparation de la colonne.

- Verser à l'aide du papier filtre le gel de silice aux 2/3 de la hauteur de la colonne.

- Verser de l'eau petit à petit. Homogénéiser à l'aide de la tige métallique afin de gélifier la silice. Remettre éventuellement de l'eau jusqu'à ce que celle-ci coule par le bas de la colonne.

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

III) Chromatographie du sirop de menthe.

- Lorsque le niveau d'eau arrive à la limite supérieure de la silice, déposer à l'aide d'une pipette pasteur quelques gouttes de sirop de menthe.
- Laisser le sirop de menthe pénétrer dans la silice.
- Ajouter ensuite l'éluant et attendre que la séparation commence.
- Recueillir le premier colorant dans un bécher.
- Lorsque le premier colorant est entièrement récupéré, remplacer l'eau par l'alcool.
- Recueillir le deuxième colorant dans un autre bécher.

Répondre à la question 1 sur la feuille réponse.

IV) Analyse spectrophotométrique des colorants extraits.

- le réglage du zéro sera fera avec une cuve contenant de l'eau.
- A l'aide d'un spectrophotomètre, tracer les spectres d'absorption (A en fonction de la longueur d'onde) des solutions recueillies : la première entre 350 et 500nm, la seconde entre 550 et 750 nm (On utilisera un pas de 10 nm).

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.

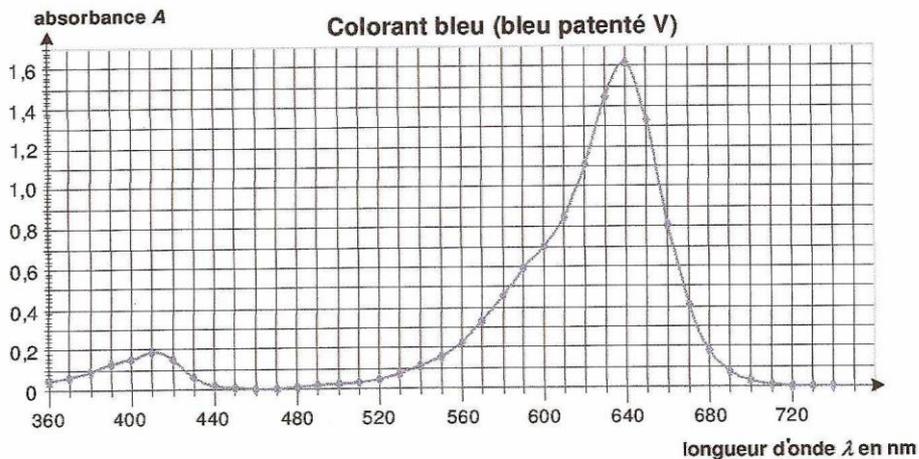
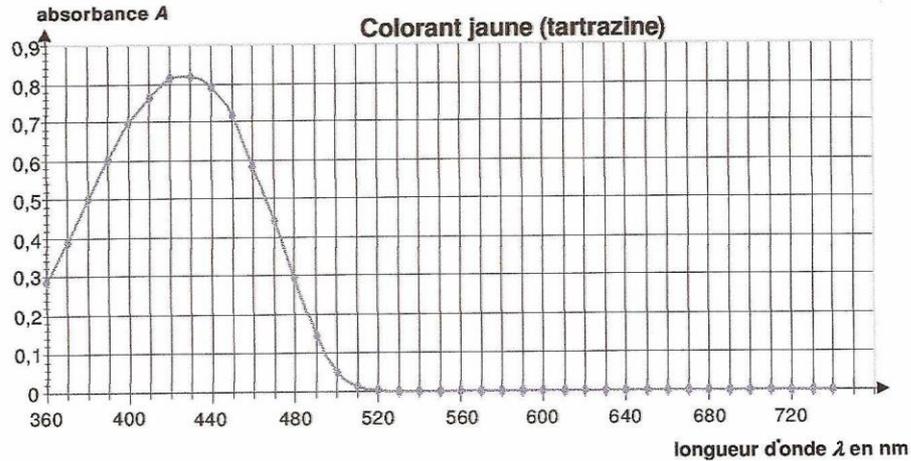
Feuille réponse.

Nom :

Prénom :

Question 1. Dans chacun des deux cas, identifier la phase fixe et la phase mobile.

Question 2. On donne les spectres d'absorption du jaune de tartrazine et du bleu patenté



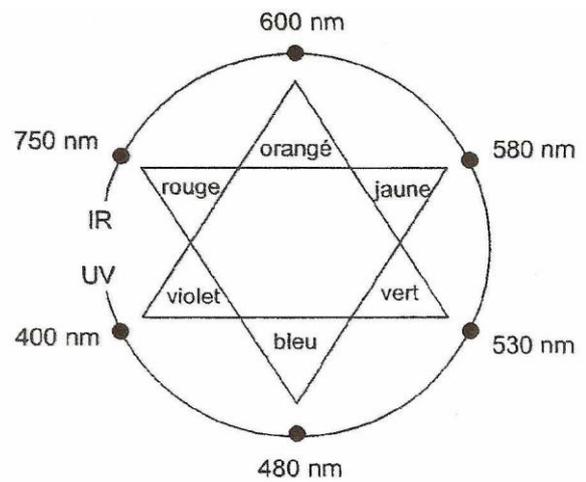
Pour quelle longueur d'onde l'absorbance de la solution de jaune de tartrazine est-elle maximale ?

Même question pour le bleu patenté :

Question 3. En utilisant l'étoile des couleurs complémentaires, justifier les teintes des deux colorants.

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.



Question 4. Pourquoi peut-on affirmer que ces deux colorants sont présents dans le sirop de menthe ?

Licence Physiotoxicologie
Module/ Techniques de laboratoire.

Longueur d'onde λ (nm)	Absorbance A
350	
360	
370	
380	
400	
420	
430	
450	
470	
490	
510	
530	
550	
570	
590	
610	
620	
630	
640	
650	
660	
670	
680	
690	

