

## TP N° 04:

### **Identification des constituants d'un mélange de sucres par chromatographie sur couche mince**

#### **But**

Au cours de ce TP les composés glucidiques d'un jus de fruit et d'un mélange inconnu de sucres seront séparés par CCM. En utilisant des témoins l'étudiant sera en mesure d'identifier les différents sucres présents dans les échantillons analysés.

#### **Matériel**

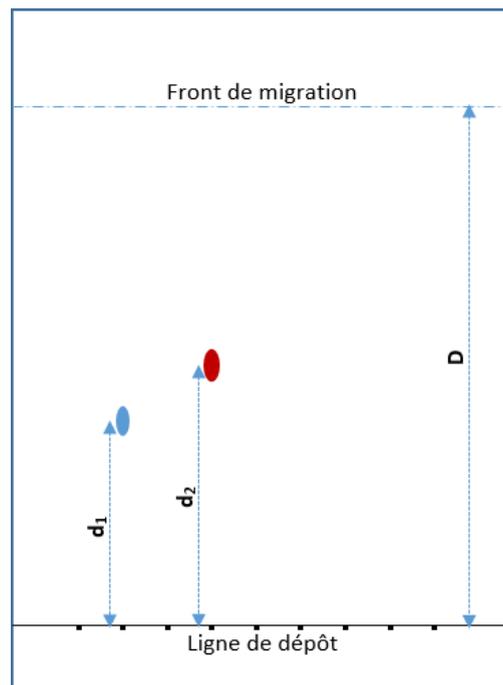
- Solution de glucose, fructose, galactose, saccharose (2%), jus de fruit et le mélange M.
- Embouts « jaunes » de micropipette.
- Plaques CCM.
- Cuve.
- Eluant (phase mobile) composé de 50% Butanol, 40% Actétone et 10% H<sub>2</sub>O.
- Solution de révélation (permanganate de potassium (KMnO<sub>4</sub>) 2% + carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 4%) à préparer juste avant l'utilisation.
- Crayon, règle et un sèche-cheveux.

#### **Mode Opératoire**

- **La cuve**
  - Commencez par remplir la cuve avec 100 mL de l'éluant afin de saturer l'atmosphère.
- **Préparation de la plaque**
  - A l'aide d'une règle, tracez une ligne horizontale à 2 Cm du bord inférieur de la plaque CCM, **attention à ne pas toucher la face blanche avec les doigts et de ne pas appuyer sur le crayon et la règle.**
  - Laissez un espace de 2 Cm à gauche et à droite de la plaque puis mettez des points-repères espacés de 2 Cm sur la ligne horizontale.
  - A l'aide d'un embout pour micropipette, mettez des gouttes (de chaque solution) les plus petites possibles aux points-repères (moins de 3 mm). **Sécher immédiatement avec un sèche-cheveux à chaque dépôt. Répétez 3 fois en séchant à chaque fois.**
- **Elution**
  - Mettez la plaque en position verticale dans la cuve, **la ligne de dépôt ne doit pas toucher l'éluant, fermez avec le couvercle.**
  - Laissez migrer jusqu'à ce que le front de migration arrive à 2 Cm du bord supérieur de la plaque.
- **Révélation**
  - Sortez la plaque, tracez au crayon le front de migration puis séchez à l'aide d'un sèche-cheveux.
  - Préparer la solution de révélation (150 mL d'un mélange équivolumique de KMnO<sub>4</sub> 2% et de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 4%).
  - Plongez votre plaque dans la solution de révélation pendant 10 secondes.
  - Séchez à l'aide d'un sèche-cheveux et entourez les taches observées, ces taches correspondent à la réduction du KMnO<sub>4</sub> par les fonctions alcool des sucres.

### Calcul du Rapport Frontal ou Retention factor (Rf)

- A l'aide d'une règle mesurez la distance (**D**) qui correspond à la distance parcourue par le front de solvant. Mesurez ensuite la distance parcourue par chacune des molécules séparées (**d**).
- Le Rf est calculé selon la formule suivante  $Rf = d/D$  Chaque molécule a un Rf qui lui est propre. Ainsi, Il est possible d'identifier une molécule en comparant son Rf avec celui d'un témoin.



### Analyse et interprétation

- Analysez le chromatogramme.
- Reproduisez les valeurs obtenues sous la forme d'un tableau.

**N.B :** une photo du chromatogramme doit être incluse dans le rapport.