

TP n°3

Chromatographie sur colonne d'un sirop de menthe

1. Introduction

La chromatographie sur colonne est une technique d'analyse largement utilisée en chimie analytique pour séparer, identifier et quantifier les composants d'un mélange complexe. Cette méthode repose sur la différence d'affinité des substances entre une phase stationnaire (généralement un solide comme la silice ou l'alumine) et une phase mobile (ou éluant), un solvant ou un mélange de solvants. La séparation est due aux différences de vitesses de migration des composés le long de la colonne, qui dépendent de leur adsorption sur la phase stationnaire et de leur solubilité dans l'éluant.

Dans le cas d'un sirop de menthe, la méthode permet d'isoler des colorants et arômes en fonction de leur polarité et interactions avec la silice, puis d'identifier les fractions par observation visuelle et spectroscopie UV-Visible.

2. Objectifs

- Séparer et identifier les principaux colorants présents dans un sirop de menthe.

3. Matériel et réactifs

- Colonne chromatographique.
- Support et pinces.
- Silice ou gel de silice (phase stationnaire).
- Solvants (eau distillée et éthanol).
- Sirop de menthe.
- Coton ou laine de verre.
- Flacons collecteurs.
- Pipettes, bécher, éprouvette.
- Balance.
- Spectrophotomètre UV-Visible.
- Cuve.

4. Mode opératoire

- Fixer la colonne chromatographique verticalement à un support.
- Placer un petit morceau de coton ou de laine de verre au fond de la colonne.
- Remplir la colonne avec de la silice ou du gel de silice jusqu'à environ 2/3 de sa hauteur, en tapotant légèrement pour homogénéiser le lit, en évitant toute poche d'air. Le diamètre des particules de silice doit être approprié pour garantir une bonne séparation.

- Ajouter lentement le solvant (mélange eau/éthanol) dans la colonne pour saturer la silice, éliminer les bulles d'air et laisser s'écouler jusqu'à ce que le niveau atteigne le haut du coton.
- Diluer environ 1 mL de sirop de menthe dans un bécher contenant environ 5 mL du solvant utilisé pour la phase mobile. Bien mélanger pour obtenir une solution homogène.
- Déposer délicatement l'échantillon dilué au sommet de la colonne à l'aide d'une pipette, sans perturber la surface.
- Ajouter progressivement l'éluant en maintenant un niveau constant au-dessus de la silice.
- Collecter les fractions dans des flacons en observant les changements de couleur.
- A l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, tracer les spectres d'absorption des solutions recueillies.

Précautions

- Manipuler les solvants prudemment avec précaution pour éviter les éclaboussures.
- Appliquer l'échantillon délicatement sur la colonne pour ne pas troubler la silice. Cela garantira une meilleure séparation des composants.
- Ne pas surcharger la colonne avec trop d'échantillon, car cela pourrait entraîner une séparation inefficace.
- Ajouter le solvant lentement et de manière constante pour éviter une dégradation ou une perturbation de la phase stationnaire.
- Surveiller attentivement le niveau de solvant pour éviter que la silice ne reste à sec, ce qui pourrait entraîner des résultats inexacts.
- Après la fin de l'expérience, nettoyer soigneusement le matériel après usage et éliminer les déchets conformément aux règles de sécurité.

5. Compte rendu

1. Réaliser un schéma annoté et légendé de la manipulation.
2. Expliquer le rôle du coton placé au fond de la colonne.
3. Décrire les teintes observées pour chaque fraction et leur ordre d'élution.
4. Discuter l'importance du choix de l'éluant sur la résolution.
5. Déterminer si le second colorant est plus soluble dans l'eau ou l'éthanol en se basant sur son temps d'élution et l'intensité dans les fractions sous éluant donné.
6. La dilution d'une solution modifie-t-elle l'allure de son spectre d'absorption ? Justifier votre réponse en expliquant ce que représente la loi de Beer-Lambert.
7. Proposez une modification au protocole qui pourrait améliorer la résolution de la séparation.
8. Quelles sont les limites principales de la chromatographie sur colonne par rapport à la chromatographie sur couche mince, en discutant les résultats obtenus à l'aide de ces deux méthodes ?