

## I- OBJECTIF

Identifier, par une chromatographie sur colonne, les constituants d'un sirop de menthe.

## II- LA CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE:

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.

## III- PROTOCOLE EXPERIMENTAL:

### 1- Expériences préliminaires : choix des éluants

Pour séparer les deux colorants, il va nous falloir trouver un premier éluant qui n'entraîne que l'un des colorants puis un second qui entraînera le second colorant. Nous allons faire une CCM du colorant vert en utilisant le même support que pour la chromatographie sur colonne : la silice.

- Manipulation : Réaliser une CCM avec comme éluant : l'eau puis une autre avec éluant : l'éthanol absolu.
- Observer les chromatogrammes obtenus et conclure.

### 2- Préparation de la colonne:

Une pipette Pasteur sert de colonne.

L'opération de remplissage de la colonne conditionne l'efficacité de la séparation

- Fixer verticalement la colonne à l'aide d'une pince. (attention la colonne est fragile)
- Mettre un morceau de coton dans l'étranglement de la partie inférieure.
- Mettre 3 à 4 mm de sable fin (avec un entonnoir en papier) le niveau doit être bien horizontal
- A l'aide de la spatule et de l'entonnoir (en papier) mettre 4 à 5 cm de silice
- Mettre un peu de sable au-dessus de la poudre (environ 5mm)
- Mettre de l'eau jusqu'au niveau du sable supérieur. Il ne faut pas qu'il y ait de bulles d'air ou de zone sans phase stationnaire

### 3- Dépôt de l'échantillon à séparer:

Déposer, très doucement, avec une pipette quatre gouttes de sirop de menthe: veiller à ne pas déformer la surface de la phase stationnaire pendant cette opération. Avant que la colonne ne se dessèche ajouter de l'eau.

### 4- Alimentation de la colonne en éluant:

- Remplir régulièrement la colonne en éluant (niveau du sable)
- Recueillir (dans un petit tube placé sous la colonne) le premier colorant
- Lorsque tout le premier colorant a été recueilli éluer avec de l'éthanol en veillant toujours à conserver la colonne imbibée d'éluant
- Mettre un autre tube sous la colonne pour recueillir le second colorant .

### 5- Analyse des solutions recueillies:

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

## IV- QUESTIONS:

1- Faire un schéma annoté de la manipulation

2- Quel est le rôle du coton?

3- Pourquoi ne faut-il pas de bulles 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.

## 2- Compléments

Sur l'étiquette d'une bouteille de sirop de menthe, on peut lire les indications suivantes : Sucre, eau, sirop de glucose-fructose, arôme naturel de menthe, colorants : E102- E131.

### colorant E131 : BLEU PATENTE

Il est utilisé en agroalimentaire comme colorant (numéro E131).

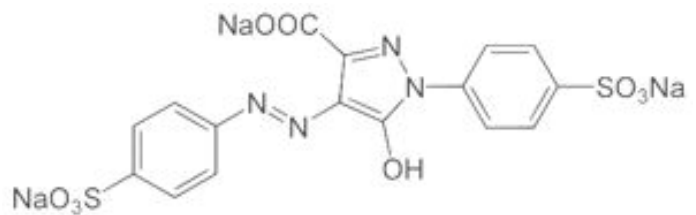
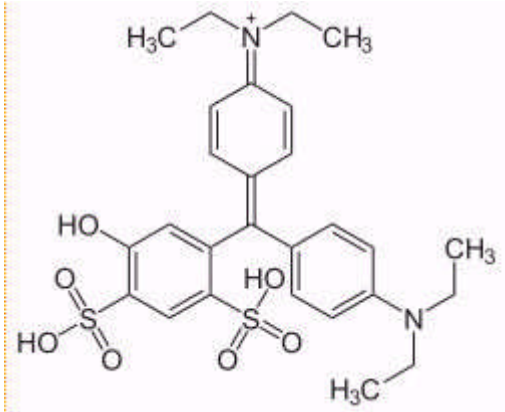
En Europe, ce colorant peut être employés seuls ou en combinaison dans les denrées alimentaires, son niveau autorisé dépend de l'application.

Son utilisation est interdite en Australie, aux États-Unis et en Norvège, puisqu'il est responsables d'allergies (allant de l'urticaire jusqu'à de rares cas de chocs anaphylactiques).

### Colorant E102 : JAUNE DE TARTRAZINE

Aucun effet secondaire n'est connu pour la tartrazine pure, excepté chez les personnes qui sont intolérantes aux salicylates (aspirine, baies, fruits) : dans ce cas la tartrazine peut également induire des symptômes d'intolérance.

En association avec les benzoates (E210-E215), la tartrazine serait impliquée dans un grand pourcentage des cas du syndrome d'ADHD (hyperactivité) chez les enfants



### COURBES D'ABSORPTION

