

CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE DES EXTRAITS OBTENUS A PARTIR DES ZESTES D'ORANGE

I – La chromatographie :

La chromatographie est une méthode physique de **séparation** et d'**identification** des constituants d'un mélange.

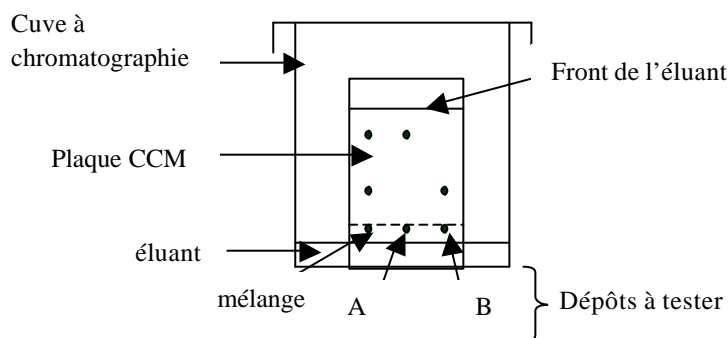
1) Principe :

Pour réaliser une chromatographie sur papier ou sur couche mince, on utilise :

- un **éluant** : solvant ou mélange de solvants constituant la **phase mobile**.
- un **support fixe** : bande de papier ou pour la chromatographie sur couche mince (CCM), une plaque d'aluminium recouverte d'une fine couche de silice constituant la **phase fixe**.

Soit un mélange de deux substances chimiques A et B.

- On verse un fond d'éluant dans la cuve à chromatographie que l'on ferme pour quelle soit saturée en vapeurs d'éluant.
- Les substances à étudier sont déposées sur la plaque CCM.
- La plaque est introduite dans la cuve à chromatographie.
- **Sous l'action de la montée de l'éluant, les substances A et B vont migrer vers le haut à des vitesses différentes**
- Cette différence de vitesses de montée permet de séparer les substances A et B du mélange.
- Par comparaison des hauteurs des tâches obtenues avec celle des dépôts A et B purs, on peut identifier les substances du mélange.



Remarque : Les tâches n'étant pas forcément colorées, il est parfois nécessaire de les révéler à l'aide d'un produit chimique ou d'une lumière UV.

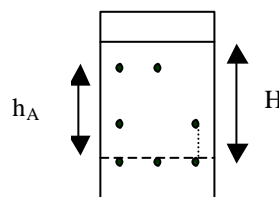
2) Rapport frontal :

On définit le **rapport frontal** d'une substance chimique, comme le rapport de la hauteur de montée du dépôt à analyser sur celle du front de l'éluant :

$$R_f = \frac{h}{H}$$

R_f nombre sans unité caractéristique de la substance chimique.

R_f dépend de la nature de la substance et de celles des phases fixe et mobile.



II – Manipulation :

Le but de la manipulation est de vérifier si la substance extraite des peaux d'orange est bien du limonène. Pour cela on va donc réaliser une chromatographie des extraits obtenus au TP précédent et comparer avec du limonène pur.

Protocole :

- Mettre une hauteur d'environ un centimètre d'éluant au fond de la cuve à chromatographie et la fermer pour qu'elle soit saturée en vapeurs d'éluant c'est à dire ici le cyclohexane.
- Dans trois tubes à essai munis d'un bouchon, prélever un peu de chacun des extraits A et B et de la solution de limonène :
 - tube 1 : extrait A des travaux pratiques n°2
 - tube 2 : extrait B des travaux pratiques n°3
 - tube 3 : limonène : celui ci a été dilué à 1% dans du cyclohexane au laboratoire
- Préparer la plaque de CCM : **ne pas toucher avec vos doigts la silice !**
 - Tracer, au crayon de papier sans appuyer, un trait horizontal à 1,5 cm du bord inférieur - ligne de dépôt -.
 - Tracer sur cette ligne trois points équidistants situés au moins à 1 cm des bords.
 - A l'aide d'une micropipette, déposer une microgoutte - diamètre inférieur à 0,5 cm - de chacune des trois solutions des tubes à essai. Changer de pic en bois entre chacun des trois dépôts et ne pas trop appuyer pour ne pas abîmer la silice.
 - Sécher les dépôts à l'aide d'un sèche cheveu et ce avec douceur ...
- Placer la plaque ainsi prête dans la cuve à chromatographie en veillant à ce que les dépôts soient **au dessus** du niveau de l'éluant. Refermer la cuve et **ne plus la déplacer**.
- Attendre que le front de l'éluant monte jusqu'à 1 cm du bord supérieur de la plaque.
- Sortir la plaque et noter au crayon de papier le front de l'éluant.
- Corner un coin supérieur de la plaque et la poser, silice en dessous, sur une solution de permanganate de potassium à 0,02 mol.L⁻¹ placée dans un cristalliseur, de façon à la mouiller en une seule fois.
- Retirer rapidement la plaque, l'égoutter et la faire sécher.
- Les tâches apparaissent, les entourer.

Exploitation :

- Décrire le chromatogramme obtenu en le reproduisant à l'échelle 1 et conclure.
- Calculer le rapport frontal du limonène dans ces conditions - silice et cyclohexane comme éluant -.