

**TP N°4 : COMMENT SEPARER LES CONSTITUANTS CONTENUS
DANS L'ESSENCE DE LAVANDE
EXTRAITE AU TP2 ET LES IDENTIFIER ?**

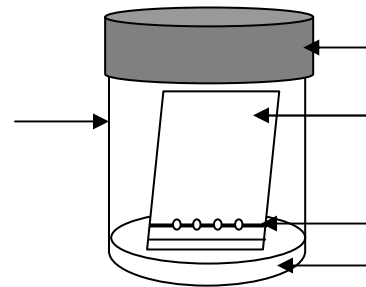
Objectif :

Séparer le(s) constituant(s) de l'essence de lavandin et les identifier. Comprendre le principe de la chromatographie et la réaliser.

I Principe de la CCM (chromatographie sur couche mince) :

- La CCM est une méthode permettant de **séparer** les constituants d'un mélange et éventuellement de les **identifier**.
- Le mélange à séparer est d'abord déposé sur une ligne horizontale, appelée ligne de dépôt, sur une plaque (gel de silice en couche mince sur une plaque d'aluminium). Puis, il est entraîné par un solvant approprié qui migre par capillarité sur la plaque.
- Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : cette opération s'explique par un double phénomène :
 - Les constituants du mélange ont des solubilités différentes dans l'éluant : chacun d'entre eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est soluble.
 - Les constituants du mélange sont absorbés différemment sur gel de silice : ils ne sont pas retenus de la même manière par ce dernier.
- Après migration, les tâches doivent être révélées.

Questions : Recopier le schéma et compléter la légende :



II Mode opératoire :

1) Préparation de la cuve à chromatographie :

Elle doit avoir une atmosphère saturée en vapeur d'éluant (ici l'éluant sera 20% d'acétate d'éthyle mélangé à 80% de cyclohexane). Cela impose que la cuve soit bien fermée et préparée un certain temps à l'avance (environ 10 min).

- a. Verser l'éluant dans la cuve à élution sur une hauteur de 7 mm environ au maximum.
- b. Insérer un papier filtre imbibé d'éluant pour améliorer la diffusion des vapeurs.
- c. Fermer ensuite la cuve.

2) Préparation de la plaque :

La plaque à CCM doit être manipulée avec précaution car elle est fragile afin d'éviter de faire des traces de doigts.

Sur une plaque de chromatographie sur couche mince (CCM), tracer sans appuyer, un trait de crayon dans le sens de la largeur à 1,5 cm du bord inférieur. Ce trait s'appelle la **ligne de dépôt**.



3) Dépôt des échantillons :

- Sur cette ligne, dessiner 4 croix, sous lesquelles vous écrirez A (pour l'essence de lavandin extraite par hydrodistillation), B (pour le linalol), C (pour l'acétate de linalyle commercial) et D (pour l'ester synthétisé).
- Avec un pique apéritif, prélever un peu d'essence de lavande et le déposer sur la croix A. Répéter si nécessaire, le dépôt 3 ou 4 fois. Le dépôt doit s'effectuer par petites touches brèves, de façon à obtenir une tâche de diamètre égal environ à 2 mm.
- Effectuer de même pour les trois autres dépôts (avec trois autres piques).

4) Élution :

- Placer la plaque bien verticalement dans le pot de confiture et le reboucher. Éviter de déplacer la cuve ou de la faire vibrer pendant l'élution.

ATTENTION : la ligne de dépôt ne doit pas tremper dans l'éluant.

- Quand le front de l'éluant arrive à environ 1 cm du bord supérieur de la plaque (attendre environ 10mn), on retire celle-ci délicatement avec la pince.
- Repérer au crayon le front du solvant : le niveau atteint par le front de l'éluant (hauteur H).
- Sécher la plaque au sèche-cheveux.

5) Révélation :

Les composants ne sont pas naturellement colorés : il faut faire apparaître les taches qui leur correspondent.

- Avec les gants et les lunettes anti-UV, placer la plaque sous la lampe à UV : on voit apparaître des taches. Mais cette révélation n'est pas très nette. On utilise une autre technique.

On va les révéler par produits chimiques :

- Plonger la plaque dans une solution de permanganate de potassium à $0,02 \text{ mol.L}^{-1}$.
- La sortir et la rincer sous l'eau du robinet.
- La sécher et cercler avec un crayon les taches qui sont apparues.

II Analyse du chromatogramme :

- 1) Qu'observez-vous lors de l'élution ?
- 2) On dit que la plaque et l'éluant sont 2 « phases » distinctes.
Quelle est la phase liquide ? Quelle est la phase solide ? Quelle est la phase mobile ? Quelle est la phase fixe ?
- 3) Que se passe-t-il pendant l'élution, lorsque l'éluant entre en contact avec les dépôts sur la plaque ?
- 4) Qu'observe-t-on pour le dépôt A ? En combien de taches s'est-il dissocié ? Que peut-on dire de la solution A ?
- 5) Mêmes questions pour les dépôts B, C et D.
- 6) Mesurer et noter la hauteur H parcourue par le solvant et la hauteur h atteint par chaque tâche.
- 7) L'espèce présente dans une tache est caractérisée par son rapport frontal R_f , défini par $R_f = h/H$.
Calculer le rapport frontal de chaque tache.
- 8) Sachant que deux corps présentant le même rapport frontal R_f sur la même plaque sont identiques, signaler quels sont les constituants de votre extrait de lavande que vous pouvez identifier.
- 9) Donnez une définition du mot « chromatographie », en utilisant les termes suivants : mélange, séparation, technique, constituants.