

Partie X1 - EXTRAIRE IDENTIFIER FORMULER

Tp X2 - EXTRACTION ET IDENTIFICATION DES COLORANTS DU SIROP

- Objectifs:**
- Vous extrairez les colorants d'un sirop de menthe.
 - Vous réaliserez une chromatographie sur papier puis une chromatographie sur colonne.
 - Vous étudierez le spectre d'absorption du sirop de menthe

LES COLORANTS ALIMENTAIRES

L'industriel sait depuis longtemps que la couleur est un argument de vente pour un produit. Cela se vérifie en particulier pour les aliments dont l'aspect influe sensiblement sur l'attrait qu'ils exercent sur le consommateur.

D'un point de vue nutritionnel ou technologique, l'usage des colorants alimentaires ne s'impose pas. Le colorant peut cependant avoir parfois des effets intéressants autres que la coloration.

Les caroténoïdes donnent une couleur jaune et attirante à la margarine et même au beurre (qui, naturellement, n'est jaune qu'en été) et sont transformés par l'organisme en vitamine A1 intervenant dans le mécanisme de la vision.

La tartrazine, que l'on peut trouver dans les boissons, y stabilise la vitamine C.

Jusqu'au milieu du XIX^e siècle, les colorants alimentaires provenaient essentiellement de végétaux comestibles (carotte: orange - betterave: rouge) ou d'extraits d'origine animale ou végétale non habituellement consommés (stigmathe de crocus: safran).

Lorsque les colorants synthétiques font leur apparition au milieu du XIX^e siècle, ils investissent rapidement l'industrie alimentaire et, comme dans les autres secteurs, y supplantent les colorants naturels.

Aujourd'hui, des colorants naturels sont encore utilisés, comme le rouge de betterave dans des potages à la tomate ou, beaucoup plus rarement maintenant, les chlorophylles dans des gommes à mâcher. Mais les colorants synthétiques dominent largement, la part la plus importante aux colorants azoïques (de formule de type R'-N=N-R), parmi lesquels on peut citer la tartrazine jaune rencontrée dans les boissons gazeuses aux fruits.

La première législation sur l'usage des colorants date de 1906 aux Etats-Unis. Au cours des années, recherches et études ont montré que nombre de colorants utilisés étaient toxiques et ils ont été interdits. De nombreux pays possèdent maintenant une réglementation concernant les colorants alimentaires. Les législations diffèrent toutefois d'un pays à l'autre. La Norvège et la Suède ont banni tous les colorants alimentaires. La France en autorise 31, dûment codés et répertoriés avec les produits dans lesquels ils sont autorisés et leur dose d'emploi.

Plus de 7 000 colorants sont actuellement commercialisés, sous quelque 35 000 marque, et environ 200 nouveaux produits sont introduits chaque année. Au niveau mondial, la production est de plusieurs centaines de milliers de tonnes pour une valeur de plus de 2,5 milliards de dollars.

Cette multitude de produits, souvent très complexes, est obtenue à partir d'une dizaine de matières premières simples, telles que le benzène C₆H₆. Bien sûr, de multiples intermédiaires sont nécessaires.

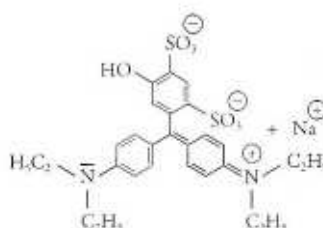
Couleur	Nom usuel	Code	Utilisations usuelles en France
Jaune	Curcumine	E 100	Moutarde, potages, beurre, croûtes de fromage
	Tartrazine	E 102	Pâtisserie, boissons, glaces
Rouge	Cochenille	E 120	Apéritifs, charcuterie, cidres, fraises et framboises
	Amarante	E 123	Caviar
Bleu	Indigotine	E 132	Pâtisserie, charcuterie, sirops, thés verts
Vert	Chlorophylles	E 140	Sirops, condiments, cornichons conservés dans un liquide
Nuance diverses	Caroténoïdes	E 160	Potages, condiments, margarines, beurres
	Rouge de betterave	E 162	Potages, bouillons, charcuterie, gomme à mâcher

1. EXTRACTION DES COLORANTS.

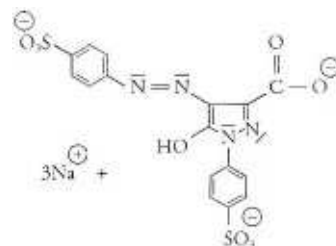
Le sirop de menthe est une solution aqueuse contenant du sucre de canne, des extraits naturels de menthe et deux colorants synthétiques (qui n'existent pas dans la nature): le jaune tartrazine: E 102 et le bleu patenté: E 131

Ces deux colorants sont des **anions** de formule complexe. Afin d'identifier les colorants présents dans un sirop, il faut les extraire car le sucre est gênant pour la chromatographie.

On utilise pour cela des brins de laine. En milieu acide les colorants (anions) peuvent se fixer sur la laine sur des sites chargés positivement. En milieu basique ils repassent en solution.



bleu patenté E 131



tartrazine E 102

L'opération préliminaire ci-dessous permet de préparer la laine en la décolorant totalement.

- Dans le bécher de 250 mL, introduisez quatre brins (et les efiler les 4) de 20 cm de laine et environ 50 mL de solution diluée d'ammoniac. Tout en remuant avec l'agitateur, portez à ébullition, maintenez une ébullition douce pendant 1 à 2 min, et laissez reposer à chaud pendant 3 min.
- A l'aide de l'agitateur, sortez la laine et rincez-la sous l'eau courante, puis essorez-la bien.
- Dans le bécher de 250 mL, versez environ 40 mL de sirop de menthe et ajoutez 10 mL de vinaigre. Portez ce mélange à ébullition douce, tout en remuant avec l'agitateur pour éviter les projections (*portez les lunettes de protection*).
- Introduisez la laine. Maintenez l'ébullition douce pendant 1 à 2 min, et laissez à chaud pendant 5 min, en remuant régulièrement.
- Observez la laine et la solution, retirez la laine et rincer-la abondamment à l'eau: qu'observez vous ?
- Introduisez la laine dans un petit bécher contenant environ 15 mL de solution d'ammoniac et portez à ébullition douce. Observez.
- Retirez la laine et laissez bouillir la solution, afin de la concentrer par évaporation de l'eau. Vous obtenez ainsi l'extrait de sirop.

2. LE PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE

La chromatographie est une technique de séparation et d'identification des espèces chimiques d'un mélange. Elle est basée sur la différence d'affinité entre deux phases:

- la phase stationnaire ou phase fixe (papier, couche mince de silice, alumine en poudre ...)
- la phase mobile ou éluant constituée d'un mélange de solvants.

Chaque constituant d'un mélange, mis en évidence par une tâche, est caractérisé, sur une phase fixe et un éluant donnés, par un Rapport frontal, noté R_f et défini par:

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}} = \frac{h}{H}$$

3. LA CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

La chromatographie sur papier est une chromatographie de partage basée sur la différence de solubilité des espèces chimiques à séparer avec l'éluant.

La phase fixe est constituée par l'eau liée aux molécules de cellulose du papier. L'éluant migre par capillarité dans le papier entraînant les espèces chimiques d'autant plus haut qu'elles y sont solubles.

Chaque groupe effectuera 2 chromatographies, en utilisant 2 éluants différents d'une part de l'eau salée à 20 g.L⁻¹, d'autre part l'un des éluants suivants :

Eluant	1	2	3	4	5
Composition	eau pure	éthanol	mélange eau/éthanol	eau salée à 100 g.L ⁻¹	mélange éthanol/eau salée à 20 g.L ⁻¹ .

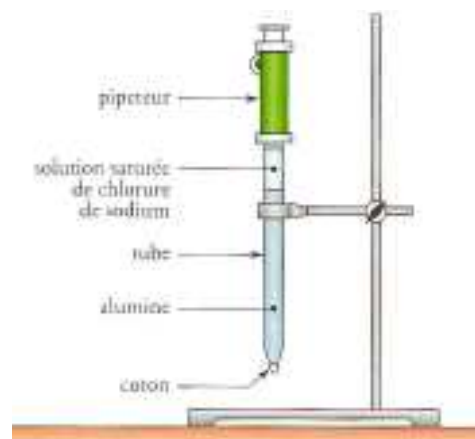
La phase stationnaire est une bande de papier spécial (papier *Whatman*), enroulée en cylindre et maintenue par une petite pince ou un trombone (voir modèle au bureau). Le papier ne doit pas toucher la paroi du bécher.

- Tracez au crayon la ligne de dépôt sur le papier, marquez 3 points J, B, S, bien au centre du trait.
- Placez 3 gouttelettes sur la ligne de dépôt : colorant alimentaire jaune, colorant alimentaire bleu, extrait de sirop.
- Laissez éluer, observez et concluez .

4. LA CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE

L'échantillon à analyser est déposé en haut de la colonne, constituée par un tube rempli de silice. Celle-ci permet la séparation des espèces chimiques, obtenue par l'écoulement continu de l'éluant à travers la colonne, est basée sur des différences des vitesses d'entraînement, vers le bas de la colonne, des substances contenues dans l'échantillon. Ces vitesses dépendent de la capacité d'*adsorption* de l'espèce par la phase stationnaire, et de la force d'entraînement de cette espèce par l'éluant.

- Verser de l'eau petit à petit jusqu'à ce que celle-ci coule par en bas.
- Versez quelques gouttes de sirop de menthe dans la partie supérieure de la colonne; attendez quelques instants que la séparation commence, puis ajoutez goutte à goutte mais en permanence de l'eau afin d'humidifier la colonne.
- Dès que le premier colorant parvient au bas de la colonne, recueillez-le dans un tube à essais.
- Une fois celui-ci complètement extrait, remplacer l'eau par de l'alcool à 95° et recueillez dans un 2^{ème} tube à essais.



On étudie les colorants contenus dans deux sirops de grenadine notés A et B et un sirop d'orange noté C . Le sirop A contient du jaune orangé (E 110) et de l'azorubine (E 122), B contient de l'azorubine (E 122) et du rouge cochenille (E 124), C contient du jaune orangé (E 110). Ces colorants sont extraits des sirops grâce à de la laine. On obtient ainsi les solutions A' , B' et C' . On effectue la chromatographie de ces trois solutions avec l'acétone comme éluant.

Dans ces conditions, les R_f sont les suivants :

$$E\ 110 : R_f = 0,65 ; E\ 122 : R_f = 0,75 ;$$

$$E\ 124 : R_f = 0,60.$$

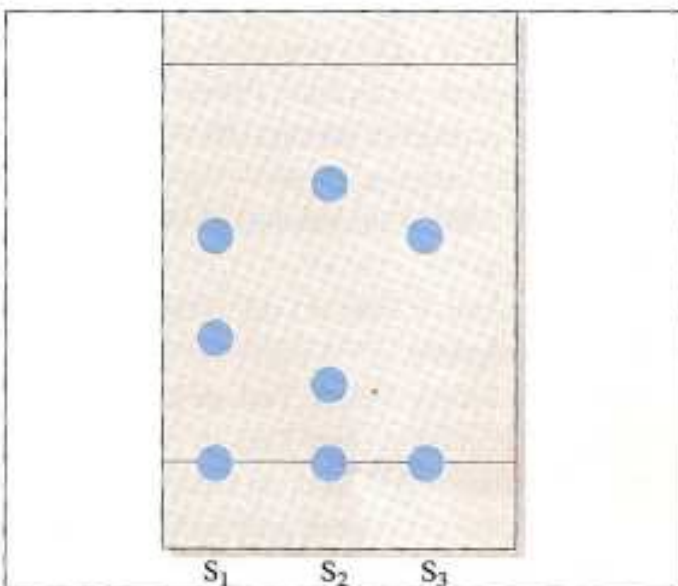
1. A2. La chromatographie sur couche mince est une technique pour :

- séparer les constituants d'un mélange ;
- identifier les fonctions chimiques d'une molécule ;
- éluer des colorants à des vitesses proportionnelles à leur masse molaire ;
- synthétiser des colorants.

Quelles affirmations sont vraies ?

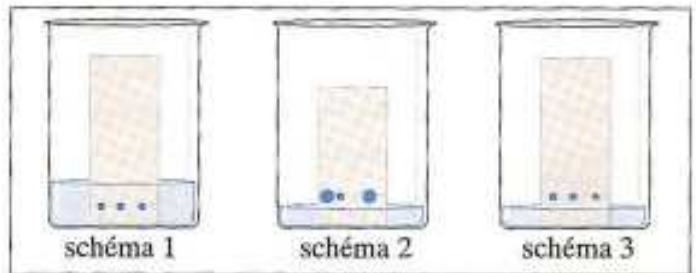
2. A2. On donne le chromatogramme suivant.

Peut-il être celui réalisé avec les trois solutions A' , B' et C' ? On argumentera la réponse.



3. Parmi les schémas de mise en œuvre d'une chromatographie ci-dessous, quel est celui qui se rapproche le plus des conditions opératoires correctes ?

Le compléter si nécessaire.



4. Une solution d'azorubine présente un maximum d'absorption à $\lambda_1 = 515\text{ nm}$ et une solution de jaune orangé à $\lambda_2 = 480\text{ nm}$.

Les graphiques en bas de page donnent l'allure de quelques spectres d'absorption (absorbance A en fonction de la longueur d'onde λ). Parmi eux, lequel ou lesquels peut (peuvent) correspondre au spectre d'une solution de sirop A' ?

