

# Extraction par solvant – Extraction du limonène contenu dans l'écorce d'orange – Identification par chromatographie

*Thème : Extraire et identifier des espèces chimiques*

## Compétences exigibles :

- connaître et choisir la verrerie appropriée pour réaliser une manipulation
- réaliser plusieurs extraction liquide - liquide
- commenter un montage expérimental
- réaliser une chromatographie sur couche mince et exploiter un chromatogramme

## Objectifs du TP :

<i>Manipulation envisagée</i>	<i>Technique utilisée</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraire une espèce chimique par solvant</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraction - Décantation</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extraire l'huile essentielle de l'écorce d'orange</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hydrodistillation</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identifier le principal constituant de l'huile essentielle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chromatographie sur couche mince (CCM)</li> </ul>

## Introduction

- *les huiles essentielles sont un mélange de composés organiques peu solubles dans l'eau qui confèrent leurs odeurs aux plantes.*

## I – Principe de l'extraction liquide – liquide ( à réaliser pendant l'hydrodistillation )

**Expérience 1 :** Des vapeurs dégagées par les cristaux de diiode étant toxiques, faites attention quand vous manipulez le diiode

Dans le premier tube à essais, on ajoute de l'eau sur des cristaux de diiode.

Dans le second tube, on ajoute du cyclohexane sur des cristaux de diiode.

- .Sous quel état physique se présente le diiode ?
- .Schématiser les deux expériences et conclure.

( espèce chimique soluble dans / espèce chimique peu soluble dans )

### Expérience 2 :

Dans le premier tube à essais, on ajoute de l'eau sur des cristaux de sulfate de cuivre.

Dans le second tube, on ajoute du cyclohexane sur des cristaux de sulfate de cuivre.

- .Sous quel état physique se présente le sulfate de cuivre ?
- .Schématiser les deux expériences et conclure.

( espèce chimique soluble dans / espèce chimique peu soluble dans )

### Expérience 3 : Eau dans laquelle a été dissout du diiode et du sulfate de cuivre.

Verser dans le tube à essais 4 mL de la solution. Ajouter alors 2 mL de cyclohexane.

- Observer, schématiser l'expérience.
- Qu'a-t-on extrait grâce à l'ajout de cyclohexane ? Expliquer pourquoi ?

( espèce chimique plus soluble dans ... que dans ... )

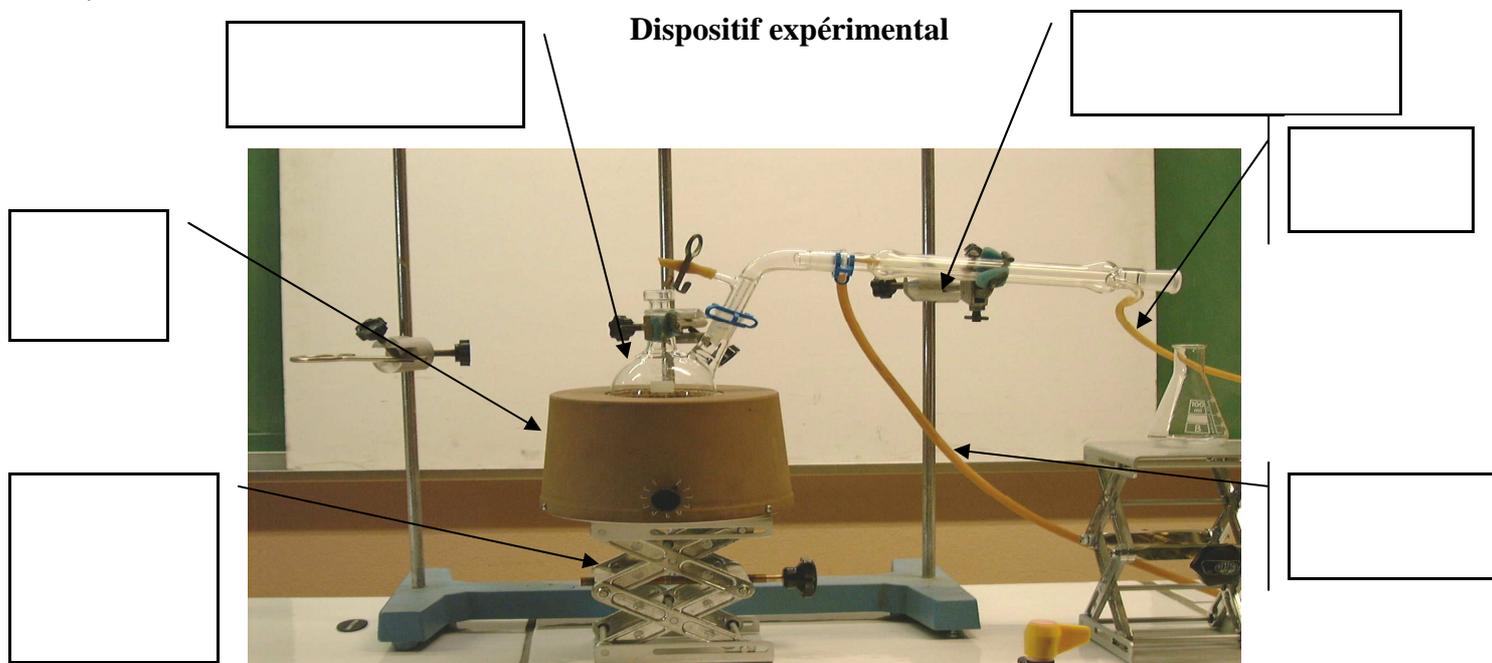
- A quelle(s) condition(s) peut-on extraire une espèce chimique d'une solution par un solvant ?

## II - Extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de l'écorce d'orange

### 1) *Principe*

- ✓ On effectue une distillation d'un mélange eau + écorces d'orange : les substances organiques volatiles présentes dans l'écorce et constituants l'huile essentielle sont entraînées par la vapeur d'eau.
- ✓ On recueille le distillat constitué de deux phases : la phase aqueuse et la phase organique constituée de l'huile essentielle.
- ✓ Dans une ampoule à décanter, on sépare complètement la phase organique de la phase aqueuse.

### 2) *Hydrodistillation*



- Une orange doit être pelée ( seul le zeste de l'écorce doit être pris sans la partie blanche sous jacente ) et découpée en petit morceaux. Ces morceaux sont placés dans environ 100 mL d'eau.
- Introduire dans le ballon par l'ouverture du ballon l'eau et le zeste de l'orange.
- Rajouter environ 50 mL d'eau ( au total Veau = 150 mL ) et quelques grains de pierre ponce.
- Démarrer la circulation d'eau froide\* du réfrigérant puis le chauffage ( thermostat au maximum au début puis ajuster par la suite )

\* ATTENTION : ouvrir très progressivement... et laisser couler un mince filet d'eau.

- Cesser le chauffage dès que l'on obtient environ 50 mL de distillat

### 3) *Extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter*

→ *La solubilité de l'huile essentielle est plus faible dans l'eau salée que dans l'eau pure  
Pour séparer complètement l'huile essentielle de l'eau, on ajoute au distillat une solution saturée de chlorure de sodium : c'est le **relargage**.*

- Verser la totalité du distillat dans une ampoule à décanter ( voir **fiche utilisation d'une ampoule à décanter** )
- Ajouter environ 20 mL de solution saturée de chlorure de sodium.
- Boucher, agiter et laisser décanter .

→ *L'huile essentielle est infiniment soluble dans le cyclohexane.*

- Ajouter dans l'ampoule à décanter environ 3 ml de cyclohexane
- Boucher, agiter et laisser décanter.
- Récupérer dans un petit bécher propre et sec la phase organique supérieure.

#### 4) Séchage de la phase organique

→ Pour éliminer toutes traces d'eau dans la phase organique, on ajoute du sulfate de cuivre anhydre.

- Ajouter dans le petit bécher, une spatule de sulfate de cuivre anhydre puis boucher et agiter. **Pas trop !** Dès que toutes les traces d'eau ont disparues, arrêtez d'en ajouter !

### III - Chromatographie sur Couche Mince de l'huile essentielle de l'écorce d'orange

1) Principe de la CCM ( voir fiche technique )

2) CCM de l'huile essentielle d'écorce d'orange

<i>Support</i>	<i>éluant</i>	<i>révélation</i>
plaque de silice	cyclohexane / acétone	solution de permanganate de potassium

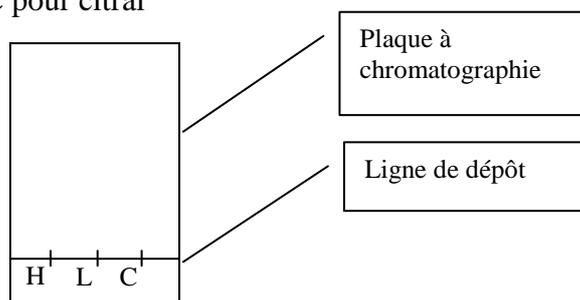
- Préparation de la cuve :

⇒ dans un bécher, verser l'éluant ( ici un mélange cyclohexane / acétone dans le rapport 90/10 ) sur une hauteur d'environ 5 mm.

⇒ fermer la cuve de manière à ce qu'elle se sature en vapeurs d'éluant.

- Préparation de la plaque :

⇒ sur une plaque à chromatographie, tracer **légèrement** au crayon à papier une ligne de départ située à environ 1 cm du bas. Sur la ligne tracer **légèrement** à distance égale, 3 points de dépôt notés **H** pour huile essentielle, **L** pour limonène et **C** pour citral



⇒ à l'aide d'une pique en bois, déposer sur la ligne une **microgoutte** de :

**l'huile essentielle** à analyser au point **H**

**limonène** dilué au point **L**

**citral** dilué au point **C**

**ATTENTION** : le diamètre de la microgoutte ne doit pas dépasser 2 mm

Remarque : le limonène et le citral sont des corps purs de référence appelés les authentiques, ils servent à identifier les constituants de l'huile essentielle.

⇒ sécher la plaque à l'aide d'un sèche cheveu.

- Elution :

⇒ placer la plaque ( ligne de départ vers le bas ) dans la cuve et fermer la cuve.

⇒ lorsque le front de l'éluant ( appelé front de solvant ) se trouve environ à 1 cm du haut, retirer la plaque et

**marquer au crayon la position du front de l'éluant.**

⇒ sécher la plaque à l'aide d'un sèche cheveu.

- Révélation :

⇒ dans une coupelle, verser une fine couche de solution de permanganate de potassium à 0,02 mol/L

⇒ poser la plaque à chromatographie sur la solution de permanganate ( couche de silice vers le bas ).

⇒ retirer au bout de quelques secondes la plaque et l'égoutter sur un papier.

⇒ les substances oxydées par le permanganate apparaissent sous forme de tâches . Les repérer en les entourant au crayon.

• Analyse du chromatogramme :

⇒ Identifier le(s) constituant(s) principal(aux) de l'huile essentielle d'écorce d'orange à l'aide des taches obtenues avec les authentiques ( éventuellement, déterminer les rapports frontaux  $R_f$  des taches obtenues)

#### IV – Compte-rendu

##### *Données :*

##### ↪ Solubilités

<i>Solvant</i>	<b>Eau</b>	<b>Eau salée</b>	<b>Cyclohexane</b>
<i>Solubilité du limonène</i>	Très peu soluble	Insoluble	Très soluble
<i>Solubilité de l'eugénol</i>	Très peu soluble	Insoluble	Très soluble

↪ Densités :  $d_{\text{eau}} = 1,0$  ;  $d_{\text{cyclohexane}} = 0,78$  ;  $d_{\text{limonène}} = 0,84$  ;  $d_{\text{eugénol}} = 1,06$

↪ Miscibilité : l'eau et le cyclohexane sont non miscibles.

#### La solution verte

##### Expérience 1 :

- 1) Sous quel état physique se présente le diiode ?
- 2) Schématiser les deux expériences et conclure.  
( espèce chimique soluble dans / espèce chimique peu soluble dans )

##### Expérience 2 :

- 3) Sous quel état physique se présente le sulfate de cuivre ?
- 4) Schématiser les deux expériences et conclure.  
( espèce chimique soluble dans / espèce chimique peu soluble dans )

##### Expérience 3 :

- 5) Observer, schématiser l'expérience.
- 6) Qu'a-t-on extrait grâce à l'ajout de cyclohexane ? Expliquer pourquoi ?  
( espèce chimique plus soluble dans ... que dans ... )
- 7) A quelle(s) condition(s) peut-on extraire une espèce chimique d'une solution par un solvant ?

#### L'hydrodistillation

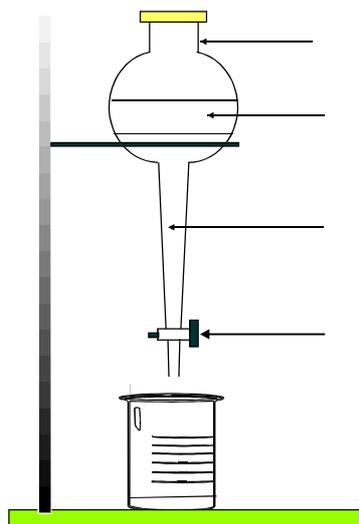
- 8) Compléter sur l'énoncé, la légende du montage à hydrodistillation.
- 9) Pourquoi faut-il toujours placer le chauffe ballon sur un support élévateur ?
- 10) A quoi servent les grains de pierre ponce introduits dans le mélange réactionnel ?
- 11) A quoi sert le réfrigérant ? Pourquoi l'eau froide venant du robinet doit-elle pénétrer par l'entrée basse du réfrigérant ?

#### L'extraction liquide – liquide dans une ampoule à décanter

- 12) On ajoute une solution saturée de chlorure de sodium pour réaliser le relargage.
  - a) Quelle est la formule du chlorure de sodium solide encore appelé couramment « sel de cuisine »
  - b) Dans quel but ajoute-t-on la solution saturée de chlorure de sodium ?

- 13) Compléter la légende de l'ampoule à décanter dessinée ci-contre en précisant phase organique, phase aqueuse ainsi que la constitution de chaque phase.

*Remarque* : le cyclohexane a été ajouté, l'ampoule agitée et la décantation est terminée.



### Le séchage de la phase organique

- 14) On utilise du sulfate de cuivre anhydre. Que signifie anhydre ? Quelle est la fonction du sulfate de cuivre anhydre ?

### La chromatographie

- 15) Déterminer les rapports frontaux des taches observées sur le chromatogramme. Pourquoi peut-on conclure que l'écorce d'orange contient du limonène ?

### La molécule de limonène

- 16) Une écriture topologique du limonène est donnée en introduction.
- Quelle est la formule brute du limonène ?
  - Quel groupe caractéristique reconnaît-on dans cette molécule ?

# Fiche technique : la Chromatographie sur Couche Mince C.C.M.

1) **Buts** La chromatographie est une technique qui permet :

- de séparer les constituants d'un mélange
- de reconnaître les constituants d'un mélange par comparaison
- de vérifier qu'une substance est pure

2) **Principe de la CCM**

La chromatographie est basée sur les différences de solubilité des substances à analyser dans deux phases :

- la **phase fixe** ou *stationnaire* elle constituée de silice, d'alumine , ... déposée sur un support rigide de plastique ou d'aluminium
- la **phase mobile** ou *éluant* constituée d'un solvant liquide choisi en fonction des composés à séparer et de la phase stationnaire.

Remarque : l'éluant s'élève par capillarité le long de la phase fixe

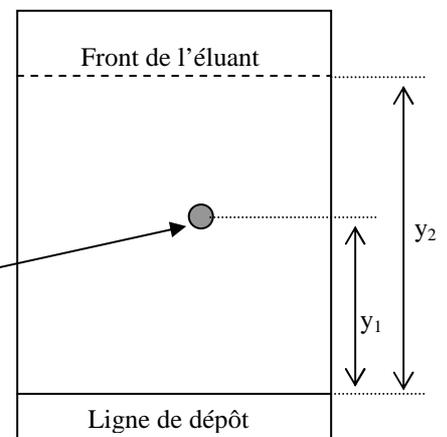
Plus la substance à analyser est soluble dans l'éluant , plus elle est entraînée avec. Chaque substance à analyser se déplace donc à sa propre vitesse derrière le front de l'éluant .

Une fois la migration terminée , on détermine **pour chaque tâche** observée le rapport frontal de déplacement  $R_f$ .

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

$$R_f = \frac{y_1}{y_2}$$

Constituant



Rem : le  $R_f$  dépend de l'éluant et de la phase fixe

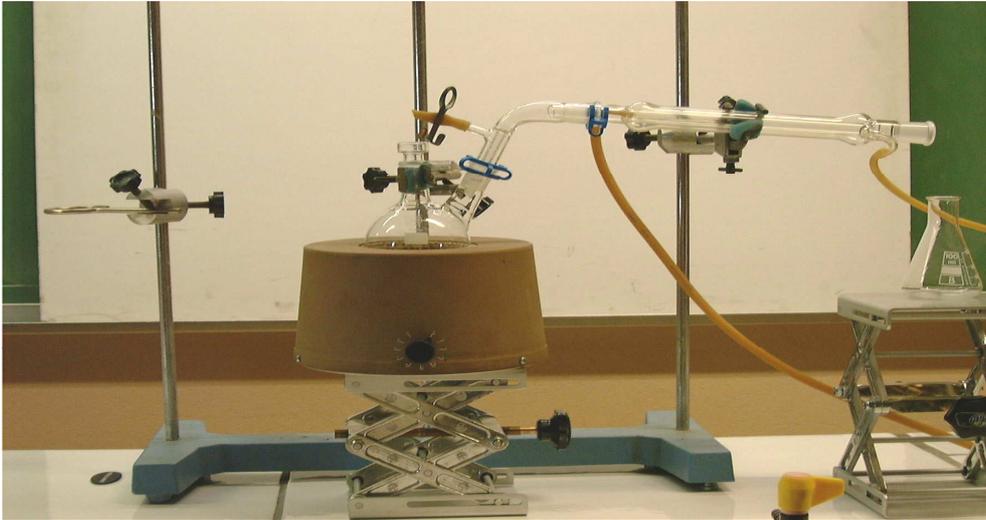
3) **Protocole d'une Chromatographie sur Couche Mince ( C.C.M. )**

- **Préparation de la cuve**  
dans une cuve à chromatographie, verser sur une hauteur d'environ 5 mm l'éluant.  
fermer la cuve pour qu'elle se sature en vapeurs d'éluant.
- **Préparation de la plaque**  
sur une plaque à chromatographie, tracer très légèrement au crayon une ligne située à environ 1 cm du bas.  
à l'aide d'une pique en bois ( ou une pipette pasteur ) , déposer sur la ligne une microgoutte des échantillons à analyser puis sécher la plaque.
- **Elution**  
placer la plaque dans la cuve et bien couvrir.  
laisser migrer l'éluant  
lorsque le front de l'éluant se trouve à environ 1 cm de l'extrémité supérieure, retirer la plaque et marquer au crayon la position du front de l'éluant.  
sécher la plaque
- **Révélation**  
si les composés à analyser sont colorés pas de révélation  
sinon la révélation est nécessaire pour rendre visible les taches  $\Rightarrow$  révélation par traitement chimique ( diiode,  $MnO_4$ ,...  
 $\Rightarrow$  révélation aux UV
- **Analyse du chromatogramme**  
déterminer les  $R_f$  et conclure.

## Matériel spécialité **TP Extraction du limonène contenu dans l'écorce d'orange**

10 binômes :

- Montage à hydrodistillation :



- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Solution saturée de chlorure de sodium ( 30 mL par binôme soit 300 mL pour l'ensemble du groupe )</li><li>• Cyclohexane</li><li>• Mélange cyclohexane / acétone dans le rapport 90 / 10 ( 10 mL par binôme soit 100 mL pour l'ensemble du groupe )</li><li>• Limonène</li><li>• Citral</li><li>• Sulfate de cuivre anhydre</li><li>• 8 Epprouvettes de 100 mL</li><li>• 8 Ampoules à décanter</li><li>• 8 Petit Erlenmeyer</li><li>• Des Spatules</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Une plaque de CCM ( 8 cm x 4 c m )</li><li>• 8 Cuve à chromatographie</li><li>• Pique en bois</li><li>• Sèche cheveu</li><li>• Essuie tout</li><li>• Grain de pierre ponce</li><li>• Montage à hydrodistillation</li><li>• Ampoules à décanter</li><li>• Lampe UV</li><li>• Eau distillée, pissette</li><li>• 25 petits béchers</li><li>• Bidons</li></ul> |
|---|--|

2 postes sur les paillasse avant :

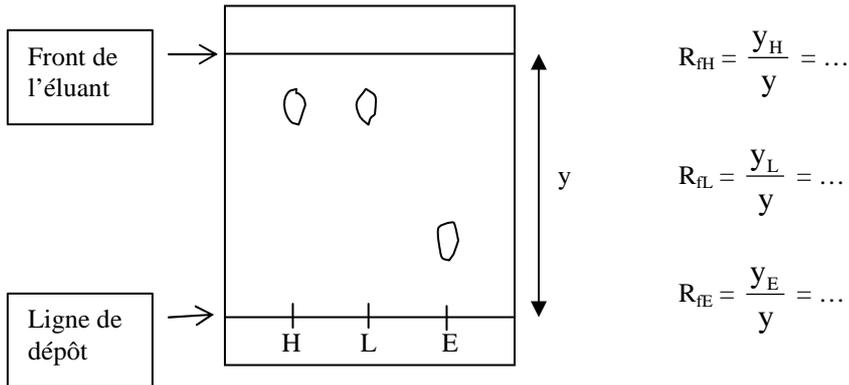
- |  |   |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Coupelle en porcelaine</li><li>• Solution de permanganate de potassium à 0,02 mol/L</li><li>• Pince à épiler</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Cristaux de diiode+ spatule</li><li>• 1 lot de Tubes à essais pour chaque poste</li><li>• Cristaux de sulfate de cuivre hydraté</li></ul> |
|--|---|

# Quelques éléments de réponses ( TP extraction du limonène )

## L'hydrodistillation

- 3) L'eau froide pénètre par l'entrée basse du réfrigérant :
  - pour que l'eau occupe la totalité du réfrigérant
  - pour que les vapeurs soient refroidies progressivement.
- 4) b) on ajoute la solution saturée de chlorure de sodium pour extraire plus complètement l'huile essentielle de la phase aqueuse.

## La chromatographie



Remarque : s'il y a plusieurs taches pour un dépôt, numéroter chacune des taches

On constate que  $R_{fH} \approx R_{fL}$  donc l'huile essentielle d'écorce d'orange contient du limonène

Ou ( si les rapports frontaux n'ont pas été déterminés ) l'huile essentielle donne une tache au même niveau que la tache du limonène donc l'huile essentielle d'écorce d'orange contient du limonène.