

LICENCE VILLEBON-CHARPAK

TRAVAUX PRATIQUES : CHIMIE - L1



T. Boddaert, Y. Bourdreux, A. Ozgümüs, J. Roques

TABLES DES MATIÈRES

- **Avant-propos** page 3
- **Sécurité au laboratoire** page 4
- **Manipulations :**
 - TP 1 : page 8
 - TP 2 : page 11

A LIRE OBLIGATOIREME



CONDITIONS OBLIGATOIRES pour l'accès aux salles de TP

1. Blouse en coton et lunettes de protection.
2. Les agents et techniciennes ne prêtent ni blouse ni lunettes.
3. Tout(e) étudiant(e) sans cet équipement complet **ne sera pas admis(e)** dans la salle
4. Cheveux longs attachés dans le dos, le foulard (coton obligatoire) rangé dans la blouse
5. Manteaux et vestes accrochés au fond de la salle
6. Sacs à main et cartables déposés au fond de la salle

EN CAS D'ALARME INCENDIE

1. Ne pas paniquer
2. Arrêter le fonctionnement de tout appareil sur secteur
3. Prendre uniquement ses affaires précieuses (porte-feuille, portable,...)
4. Attendre l'ordre d'évacuation par l'enseignant(e)
5. Evacuer le bâtiment calmement et en ordre rangé sans courir
6. Aller au point de rassemblement le plus proche (parking) et nulle part ailleurs
7. Attendre l'ordre de réintégrer les locaux

DURANT LES EXPERIENCES

1. Travailler dans le calme et proprement
2. Interdiction de boire et manger dans les salles
3. Prendre soin du matériel et de la verrerie
4. **Signaler immédiatement toute casse** ou dysfonctionnement
5. Lire les fiches de sécurité des produits chimiques utilisés
6. Ne rien pipeter à la bouche
7. Les déchets liquides et solides ne sont pas des déchets ménagers (récupération)
8. En cas de blessure, rincer abondamment sous l'eau du robinet, prévenir l'enseignant(e)
9. La paillasse doit être aussi propre à la fin de la séance qu'à votre arrivée
10. La calculatrice scientifique possédant les fonctions statistiques (avec son manuel d'utilisation) et papier millimétré sont conseillés
11. Toute utilisation du PC en dehors de l'application dédiée à l'expérience sera sévèrement punie.

Le Responsable des TP, Septembre 2013

CONSIGNES DE SECURITE

LA SECURITE AU LABORATOIRE DE TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE ORGANIQUE

rédigé par le Service Central d'Hygiène et de Sécurité du Travail
(Bâtiment 337 Centre d'Orsay Tél. : 01 69 15 78 00)

Ce document est à la disposition des étudiants en salle de TP.

Il en est extrait les deux pages qui suivent concernant les recommandations générale et celles particulières aux travaux pratiques de Chimie.

Toute information peut être complétée en consultant, au service cité plus haut, les documentations suivantes :

- Notes documentaires
- Fiches toxicologiques
- Brochures de l'Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS)

RECOMMANDATIONS GENERALES

1. **CONNAITRE** l'emplacement des issues normales et repérer les **ISSUES DE SECOURS** en cas de sinistre.
2. **REPERER** les emplacements des EQUIPEMENTS DE SECURITE :
Extincteurs, couvertures ignifuges, douches, lave-œil, interrupteur d'urgence ou général, déclenchement d'alarme sonore.
3. **SAVOIR UTILISER** chacun de ces moyens de secours, en tenant compte des consignes affichées, soit à proximité, soit sur les appareils et matériels.
4. **PORTER DES LUNETTES DE PROTECTION.** Le **port de lentilles de contact** est vivement **déconseillé** et en aucun cas il ne doit dispenser du port des lunettes de protection.
5. **PORTER** un vêtement approprié : **BLOUSE EN COTON** (jamais en textile synthétique pouvant provoquer des brûlures graves en cas de feu sur une personne) normalement boutonnée.
6. **NE PAS FUMER** dans un laboratoire, **NI MANGER NI BOIRE.**
7. **Eviter tout contact de produits chimiques avec les yeux et la peau :**
 - **Ne pas toucher aux produits avec les mains**
 - **NE PAS PIPETER A LA BOUCHE**
8. Ne pas chercher à « **sentir** » les produits, **ne pas inhaler** les vapeurs.
9. **ACCROCHER LES CHEVEUX LONGS.**
10. Les **VOILES** doivent être en **COTON** et glissés sous la blouse.

RECOMMANDATIONS PARTICULIERES

1. **Ne touchez pas aux appareils, ni aux flacons de produits chimiques avant d'être informé des précautions à prendre, pour ne pas risquer l'accident.**
2. **Ne courez pas** dans les salles de travaux pratiques.
3. **N'encombrez jamais les passages entre les paillasse.** Les sacs et les tabourets doivent être rangés sous les tables lorsque vous êtes debout.
4. **Manipulez toujours au-dessus du plan de la paillasse.**
5. **Ne vous déplacez pas avec des flacons ou des récipients ouverts.**
6. **Pensez au personnel qui doit nettoyer après votre départ : ne laissez ni verre cassé, ni produits chimiques sur les paillasse, dans les éviers Utilisez les containers prévus à cet effet.**

Les solvants usés et les produits toxiques ne doivent pas être rejetés dans les éviers ou dans la poubelle, mais doivent être collectés dans des récipients spécialement prévus à cet effet, en séparant les produits incompatibles entre eux.

TP 1

Chromatographie sur couche mince

La chromatographie est une technique d'analyse permettant la **séparation** d'un mélange de substances.

D'une façon générale, la chromatographie consiste à déposer le mélange à séparer sur un support (appelé phase stationnaire) et à faire déplacer les constituants du mélange grâce à un solvant approprié (nommé phase mobile ou éluant). Il s'agit donc d'une technique d'adsorption. La migration des constituants du mélange est fonction de l'affinité relative du constituant donné pour la phase mobile et la phase stationnaire.

A. Introduction

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption; la phase mobile (éluant) est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire (en général poudre de silice, d'alumine ou de cellulose) fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou encore d'aluminium.

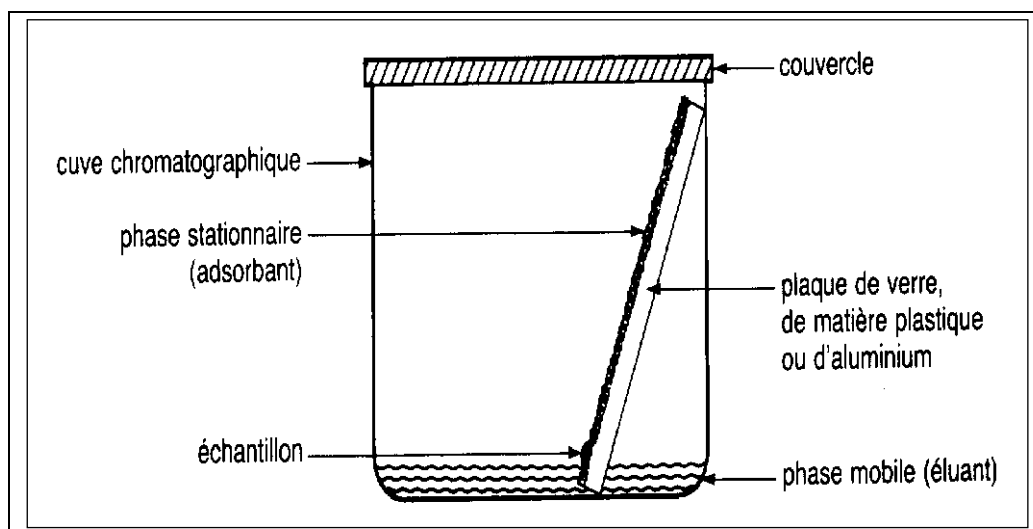
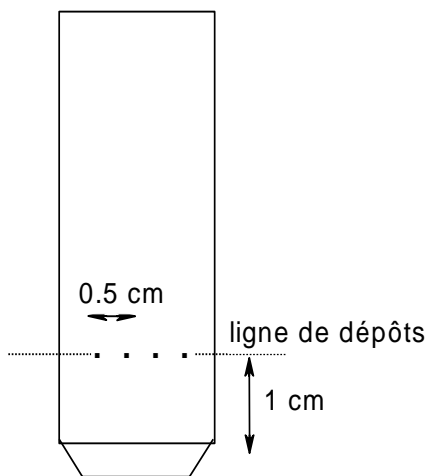


Fig.1 : schéma de la préparation

Une fois l'échantillon déposé sur la phase stationnaire, les constituants du mélange migrent à une vitesse qui est fonction de leur nature et de celle de l'éluant. En effet il y a compétition entre d'une part les forces électrostatiques qui retiennent le constituant sur la phase stationnaire et, d'autre part, sa solubilité dans l'éluant utilisé : il s'établit un équilibre de partage du constituant entre la phase stationnaire et la phase mobile. Ainsi les composés migrent sur la plaque par échange continu entre la phase stationnaire et la phase mobile.

B. Mode opératoire général d'une expérience de CCM



- Il est nécessaire de manipuler très soigneusement afin de ne pas souiller les plaques ni les abîmer. S'assurer également que les capillaires utilisés soient bien propres et ne pas les mélanger.

- Préparer la cuve d'éluion : le niveau de remplissage ne doit pas excéder la hauteur de la ligne de dépôts de la plaque CCM à plonger dans la cuve. Fermer la cuve de façon à saturer son atmosphère en vapeur d'éluant.

- Préparer une plaque CCM comme indiqué sur le schéma ci-contre. Noter la ligne de dépôts.

- A l'aide de capillaires, déposer le mélange à séparer et les échantillons références s'ils sont disponibles. Pour avoir une bonne séparation, il est recommandé de faire des tâches les plus petites possibles.

- Les tâches étant sèches (solvant évaporé), plonger la plaque CCM dans la cuve d'éluion. Il est recommandé de couper les extrémités de la plaque CCM avant utilisation de façon à limiter les effets de bord d'éluion au cours de la migration (voir schéma).

- Laisser migrer. Eviter de déplacer la cuve pendant la migration.

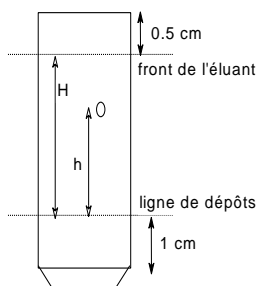
- Retirer la plaque CCM de la cuve avant que le front du solvant n'atteigne la partie supérieure de la plaque CCM.

- Noter le front de solvant immédiatement après la sortie de la cuve.

C. Exploitation des résultats

Chaque constituant est caractérisé par son **rapport frontal** R_f dans un éluant donné. Une bonne séparation est obtenue lorsque les R_f des constituants séparés sont les plus différents possibles entre eux, et différents de zéro (pas de migration) et de un (migration dans le front de l'éluant). La nature de l'éluant au cours d'une expérience de chromatographie est choisie de façon à optimiser la séparation des constituants du mélange.

Il est aisé de repérer les taches de migration au cours d'une expérience de CCM lorsque les constituants sont colorés. Lorsqu'ils sont incolores, des révélateurs sont alors utilisés.



h = distance parcourue par la substance au cours de la migration

H = distance parcourue par l'éluant au cours de la migration

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

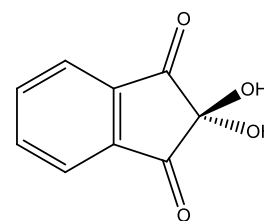
D. Expériences : Séparation et identification de mélanges d'un mélange d'acides aminés incolores par CCM

Introduction :

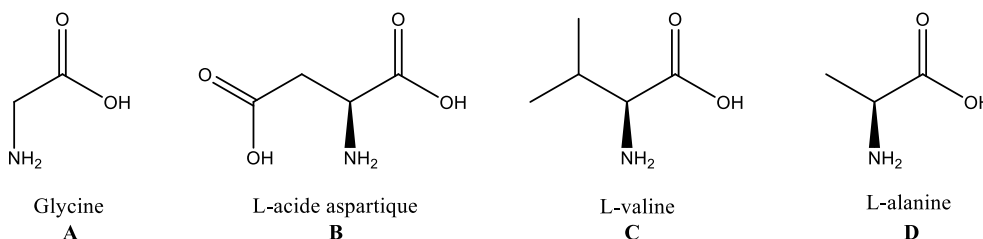
Pour déterminer quels sont les acides aminés constitutifs d'une protéine, on soumet la protéine à une hydrolyse puis on cherche à identifier les acides aminés qui la constituent après les avoir séparés. La méthode de séparation utilisée est la **chromatographie sur couche mince** (CCM) qui est adaptée à la séparation des petites molécules biologiques.

Pour identifier les acides aminés, on compare l'emplacement des tâches formées par les acides aminés présents dans l'hydrolysate de la protéine étudiée avec l'emplacement des tâches formées par les 20 acides aminés **protéinogènes** lorsqu'ils sont soumis à la chromatographie dans les mêmes conditions.

Dans le cas présent, vous aurez à identifier les acides aminés d'un mélange inconnu comportant au maximum quatre acides aminés dont les structures sont indiquées ci-dessous. Puisque les composés utilisés sont tous incolores, un révélateur spécifique de ces produits, la ninhydrine, est utilisé pour repérer leur position sur la plaque de silice. En effet, la ninhydrine en présence d'un acide aminé forme un complexe coloré.



Ninhydrine



Mode opératoire:

- Déposer chacune des solutions suivantes: L-acide aspartique, L-valine, Glycine et L-alanine ainsi que le mélange inconnu (**en notant bien le numéro du mélange**) sur une plaque **CCM de silice** comme indiqué en introduction.
- L'éluant est un mélange butanol/acide acétique/eau (60/30/10 en proportions volumiques).
- Faire éluer la CCM dans la cuve.
- Après avoir repéré le front du solvant, placer la plaque CCM dans la sorbonne
- Révéler la plaque grâce à une solution de ninhydrine **sous la sorbonne : la ninhydrine est un produit corrosif**.
- Sécher la plaque sur une platine chauffée entre 130° C et 150°C.
- Observer alors l'apparition des colorations.

Résultats:

- Calculer le *R_f* de chaque amino-acide.
- Déterminer les constituants du mélange inconnu.
- Décrire brièvement vos observations et remarques concernant la technique utilisée et proposer des solutions aux problèmes potentiellement rencontrés

TP 2

Identification de fonctions organiques

Cette séance de travaux pratiques consistera à utiliser des tests chimiques afin d'identifier les différentes fonctions organiques.

A. Identification de quelques fonctions organiques

Il existe en chimie de nombreuses fonctions qu'il est possible d'identifier par de simples tests ne nécessitant pas d'appareillage particulier. En effet, depuis la réalisation des premières transformations chimiques, il a été nécessaire de déterminer les fonctions en présence et ce bien avant l'apparition des appareils d'analyse.

Grâce à ces tests, facilement réalisables au laboratoire, il est possible de différencier aisément un composé acide d'un composé basique mais également de rendre la différenciation plus minutieuse et de réaliser l'identification d'une cétone vis-à-vis d'un aldéhyde.

La totalité de ces tests repose sur la différence de réactivité chimique de chacune de ces fonctions avec un réactif bien particulier.

1) Réactifs utilisés

Bien qu'il existe de nombreux tests afin d'identifier les différentes fonctions chimiques en présence, vous aurez au cours de cette séance à mettre en évidence la présence ou l'absence de :

- composés carbonylés :

- aldéhydes et cétones : **2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH)**

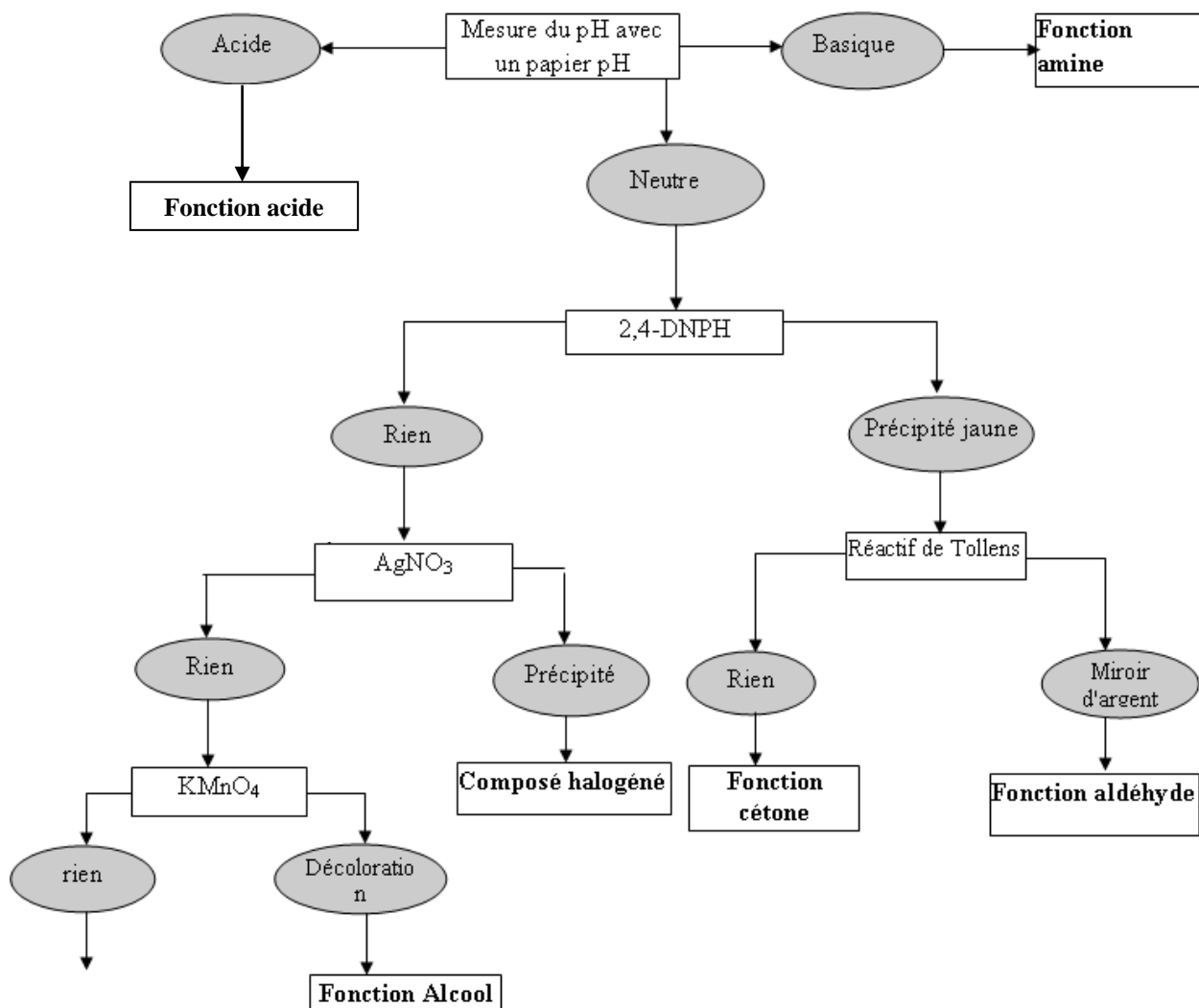
- aldéhydes : **Réactif de Tollens**

- composés halogénés : **solution de nitrate d'argent**

- acides carboxyliques et amines : **papier pH**

- alcool : **solution de permanganate de potassium**

L'organigramme suivant montre la démarche à suivre pour une étude systématique permettant de tester chaque fonction chimique et d'en déduire, en fonction des résultats obtenus, la fonction présente.



2) Expériences

Vous disposez de 8 flacons (A, B, C, D, E, F et 2 inconnus I) contenant chacun un composé possédant une et une seule fonction chimique (connue pour les flacons de A à F et inconnue pour les flacons I). Le but de cette expérience est de confirmer la présence de la fonction chimique indiquée pour les flacons de A à F et de déterminer en suivant l'organigramme les fonctions chimiques contenues dans les flacons de structure inconnue (**en notant bien les numéros des flacons inconnus utilisés**).

Liste des produits disponibles

- acide éthanoïque : A
- solution d'ammoniaque : B
- éthanol : C
- propanone : D
- benzaldéhyde : E
- 2-chloro-2-méthylpropane : F (expérience réalisée par l'encadrant)
- Inconnu 1 : I1
- Inconnu 2 : I2
- Inconnu 3 : I3
- Inconnu 4 : I4

Mode opératoire

- *Test papier pH* : déposer une goutte de produit à tester sur un morceau de papier pH
- *Test au DNPH* : dans un tube à essai, mettre quelques gouttes de réactif puis 0.5 mL de produit à tester
- *Test au réactif de Tollens* : dans un tube à essai, verser 1 mL de réactif puis 0.5 mL de produit à tester. Mettre au bain de sable
- *Test au nitrate d'argent* : dans un tube à essai, introduire 1 mL de réactif puis quelques gouttes de produit à tester
- *Test au permanganate de potassium* : dans un tube à essai, introduire 1 mL de réactif puis quelques gouttes de produit à tester. Mettre au bain de sable

Résultats

- *Décrire brièvement le résultat de chacun des tests (observation, décoloration, précipitation...).*
- *Que contiennent les flacons inconnus ? Pourquoi ?*