

TP 4 : Contrôle qualité d'un extrait de vanille

CORRECTION

Capacités expérimentales travaillées :

- Réaliser une extraction liquide-liquide
- Identifier la nature des phases dans une ampoule à décanter
- Justifier un protocole d'extraction sur la base de données fournies
- Pratiquer une démarche expérimentale pour déterminer une concentration par spectrophotométrie UV-visible

Si la vanille a longtemps été utilisée pour ses vertus médicinales, elle trouve également sa place dans nos cuisines. Il est possible de la trouver dans le commerce sous différentes formes : sous la forme de sucre vanillé ou encore sous la forme d'extrait de vanille.

L'objectif de ce TP est de **vérifier leur teneur en vanilline**, qui doit être **d'au moins 0,2 % en masse** pour que le produit puisse porter l'indication "**arôme de vanille**", d'un extrait de vanille, dont l'étiquette est fournie ci-dessous. Cet extrait de vanille a une densité : $d = 1,1$.

L'**ion vanillinate**, la base conjuguée de la vanilline, est un **composé coloré** dont le spectre d'absorption est connu et qu'il est facile de **doser par spectrophotométrie**. L'arôme de vanille pouvant contenir plusieurs arômes différents, dont plusieurs peuvent être colorés, il va falloir extraire la vanilline, avant de doser la solution de vanillinate pure par spectrophotométrie.



ARÔME VANILLE. INGRÉDIENTS : Eau, sucre, sirop de glucose, arôme, propylène glycol.
A conserver à l'abri de la lumière, de la chaleur et de l'humidité.

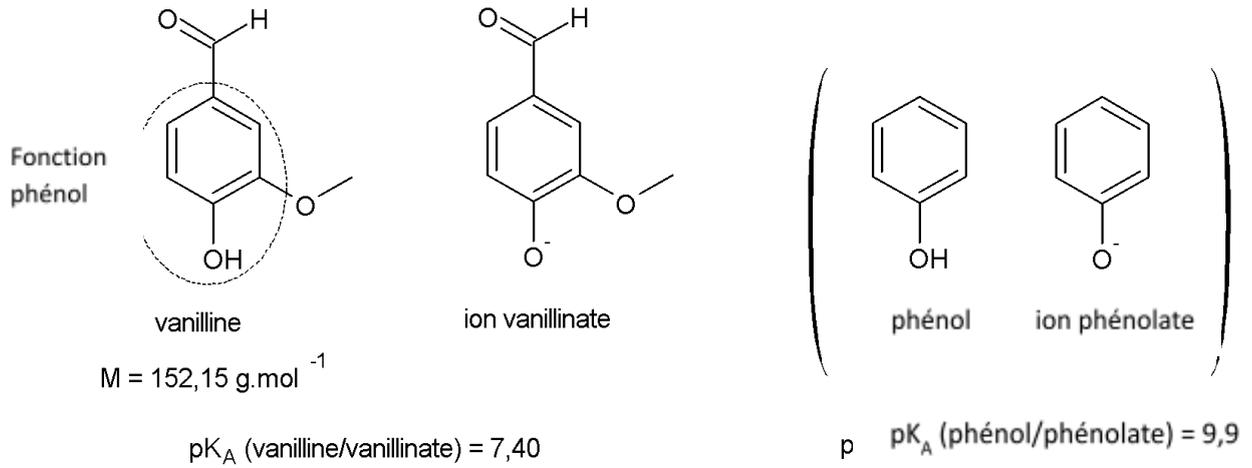
Objectif : Extraire la vanilline d'un extrait de vanille
Réaliser un dosage spectrophotométrique par étalonnage de l'ion vanillinate obtenu par extraction.

Document 1 : Données physico-chimiques de quelques solvants organiques

| | Eau | Eau salée | Cyclohexane | Éthanol | Éthanoate d'éthyle | Ether diéthylique |
|--|--------------|------------------|--------------|--------------|------------------------|------------------------|
| Densité | 1,00 | 1,13 | 0,779 | 0,789 | 0,897 | 0,714 |
| Miscibilité avec l'eau | | oui | non | oui | non | non |
| Solubilité de la vanilline | 1 mg/ 100 mL | très peu soluble | soluble | très soluble | très soluble | très soluble |
| Solubilité de l'ion vanillinate | très soluble | très soluble | insoluble | insoluble | insoluble | insoluble |
| Solubilité du sucre et du glucose | très soluble | très soluble | insoluble | soluble | insoluble | insoluble |
| Miscibilité du propylène glycol (liquide) | miscible | miscible | Non miscible | miscible | partiellement miscible | partiellement miscible |
| Précautions d'emploi | | | | | | |

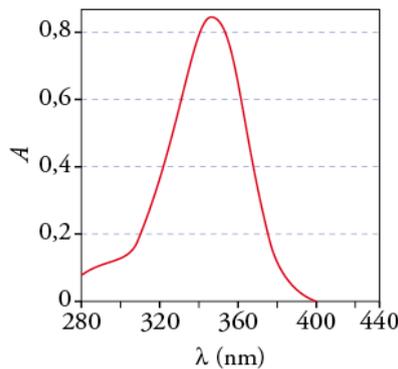
Document 2 : Données acido-basiques de la vanilline et de l'ion vanillinate

La vanilline possède une fonction phénol, à l'origine du caractère acide de cette molécule.



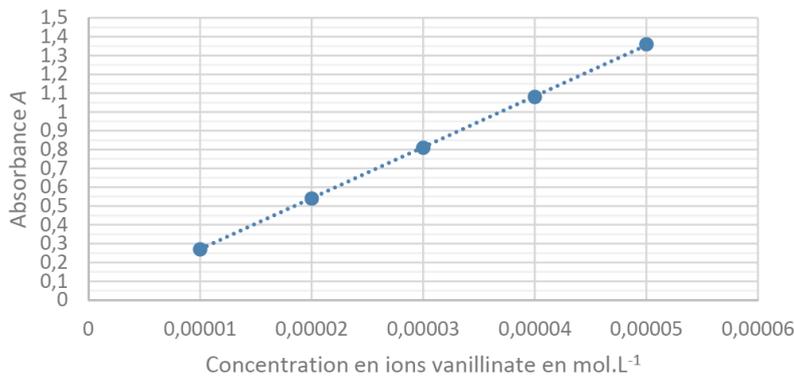
Document 3 : Propriétés spectroscopiques de l'ion vanillinate

Le spectre d'absorption d'une solution d'ions vanillinate, représentant l'absorbance A de la solution en fonction de la longueur d'onde λ est représenté ci-dessous :



Les absorbances de solutions étalon en ions vanillinate (base conjuguée de la vanilline) dissous dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ont été mesurées afin d'obtenir la courbe d'étalonnage ci-dessous. Le spectrophotomètre a été réglé de manière à avoir la plus grande sensibilité.

$A = f(C) \text{ (Ion vanillinate)}$



Préparation théorique (à faire avant de venir en TP) :

☒ Pour vous aider, lisez avant de préparer le TP les fiches méthodes portant sur l'extraction liquide-liquide et sur la spectroscopie UV-visible.

1. Quel est le pK_A attendu ordinairement pour un couple alcool/alcoolate ? Expliquez pourquoi le pK_A du couple phénol/phénolate est plus bas que cela, et pour quoi le pK_A du couple vanilline/vanillate est encore plus bas.

Pour un couple alcool/alcoolate, le pK_a attendu est de 16-18.

Pour un couple phénol/ phénolate, le pK_a est de 9 en raison de la stabilisation de la forme basique par les formes mésomères. Le phénol a bien un cycle aromatique qui permet une délocalisation des électrons.

L'ion vanillate possède encore plus de formes mésomères en raison de la conjugaison avec la fonction aldéhyde.

2. D'après les données du *document 1*, quel solvant choisir pour l'extraction de la vanilline ?

Pour l'extraction, on veut faire passer la vanilline préalablement diluée, dans un solvant organique. Il faut donc que la vanilline soit soluble dans le solvant organique à choisir. On souhaite, de plus, qu'il y ait le moins possible d'autres molécules solubles dans le solvant organique afin d'améliorer la performance de l'extraction.

- Le solvant donnant le plus de performance est le cyclohexane car le propylène glycol n'est pas miscible avec lui. Seulement, c'est un solvant qui présente trop de risques pour l'environnement et pour la santé.
- Le diéthyl éther et l'acétate d'éthyle ont ensuite les mêmes "performances" pour l'extraction car seul le propylène glycol y est partiellement miscible.
- L'éthanol n'est pas adapté car il est miscible avec l'eau salée et ne permet pas de faire une extraction avec l'ampoule à décanter.

Le solvant le plus adapté est le diéthyl éther car c'est celui qui présente une différence de densité plus importante avec l'eau salée.

3. Quelle loi vérifie la courbe d'étalonnage du *document 3* ? L'énoncer en définissant les grandeurs introduites.

Loi de Beer Lambert : $A = \epsilon l C$ où

- A est l'absorbance (sans unités)
- ϵ est le coefficient d'absorption molaire ou coefficient d'extinction molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
- l est la longueur de la cuve (cm)
- C est la concentration en quantité de matière ($mol \cdot L^{-1}$)

4. Quelle est la longueur d'onde de travail la plus adaptée pour réaliser cette courbe d'étalonnage ?

La longueur d'onde de travail la plus adaptée est à 345 nm.

☒ Avant de répondre aux questions suivantes, lire le protocole d'extraction indiqué dans la partie expérimentale.

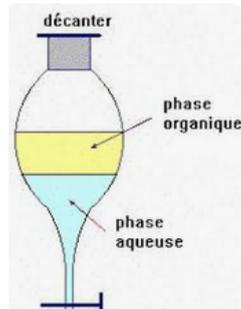
5. Expliquer l'intérêt de diluer l'extrait de vanille dans l'eau salée, et pas dans l'eau pure, avant de réaliser l'extraction.

L'intérêt de diluer l'extrait de vanille dans l'eau salée est de réaliser un relargage. Les molécules d'eau étant utilisées pour réaliser la sphère de solvatation des ions Na^+ et HO^- , elles sont moins disponibles pour réaliser des liaisons

hydrogènes avec la vanilline. Celle-ci est alors “relarguée” en phase organique où elle réalise des liaisons de Van der Waals.

De plus l'eau salée présente une densité plus importante, ce qui permet d'augmenter l'écart de densité entre la phase organique et la phase aqueuse.

6. Pour l'étape 3 du protocole fourni, dessiner l'ampoule à décanter avec la phase organique et la phase aqueuse. Indiquer où se trouve la vanilline et les autres constituants de l'extrait naturel. Pourquoi réalise-t-on 2 extractions avec 20 mL de solvant organique et pas une seule extraction avec 40 mL ?



La phase aqueuse est en dessous de la phase organique car elle présente une densité plus importante que le diéthyléther.

Phase aqueuse : eau, ions Na^+ , ions Cl^- , sucre, glucose, propylène glycol

Phase organique (au-dessus) : diéthyléther, vanilline, reste de propylène glycol

On réalise 2 extractions avec 20 mL de solvant organique (plutôt qu'une seule extraction avec 40 mL) car cela nous permet d'améliorer le rendement de l'extraction.

7. Pour l'étape 5 du protocole fourni, dessiner l'ampoule à décanter avec la phase organique et la phase aqueuse. Indiquer la nature de la molécule d'intérêt et sa position. Pourquoi vérifie-t-on le pH dans la deuxième phase aqueuse ?

Pour la mesure de l'absorbance, on souhaite le faire en phase aqueuse afin d'éviter de manipuler le spectrophotomètre sous hotte. Il est donc nécessaire d'avoir la molécule absorbant les UV dans la phase aqueuse. La vanilline est soluble en phase organique alors que sa base conjuguée (l'ion vanillate) est soluble en phase aqueuse. On va donc travailler à $\text{pH} > \text{pKa} + 1$ afin d'être sûr d'avoir la forme basique de la vanilline majoritaire dans la solution.

Phase organique (au dessus) : diéthyléther, reste de propylène glycol

Phase aqueuse (en dessous) : eau, ions Na^+ , ions HO^- , ion vanillate, reste de propylène glycol

I

8. Si l'extrait de vanille a une teneur de 0,2% en vanilline, quelle est la concentration molaire en ion vanillate attendue dans la solution S obtenue à la fin du protocole fourni ?

$$t_m = \frac{m_{\text{vanilline}}}{m_{\text{totale}}} = \frac{\frac{m_{\text{vanilline}}}{V}}{\frac{m_{\text{totale}}}{V}} = \frac{n_{\text{vanilline}} * M_{\text{vanilline}}}{\rho_{\text{vanilline}}} = \frac{C_{\text{vanilline}} * M_{\text{vanilline}}}{d_{\text{vanilline}} * \rho_{\text{eau}}} = 0.2 \%$$

$$C_{\text{vanilline}} = \frac{0.2 * d_{\text{vanilline}} * \rho_{\text{eau}}}{100 * M_{\text{vanillate}}}$$

$$\text{A.N. : } C_{\text{vanilline}} = \frac{0.2 * 1.1 * 1000}{100 * 152.15} = 1.4 * 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$$

Pour connaître la concentration en ions vanillate à la fin de la réaction il faut estimer la dilution réalisée :

On a prélevé 1 mL de la solution

$$n_{\text{vanilline-prélevée}} = C_{\text{vanilline}} * V_{\text{prélevé}} = 1.4 * 10^{-2} * 1.0 * 10^{-3} = 1.4 * 10^{-5} \text{ mol}$$

En supposant que toute la vanilline a pu être extraite, on a :

$$- n_{\text{ion-vanillate-extrait}} = n_{\text{vanilline-initiale}}$$

De plus le volume de la fiole jaugée est de 200 mL

$$\text{Donc } C_{\text{ions-vanillate-finale}} = \frac{n_{\text{ions-vanillate-extrait}}}{V_{\text{fiole}}} = \frac{1.4 * 10^{-5}}{2.00 * 10^{-1}} = 7 * 10^{-5} \text{ mol/L}$$

(Cela revient en réalité à faire une dilution par 200 de la solution initiale)

La loi observée est :

- A = 0.28 pour une concentration de $1 * 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$
- A = 1.37 pour une concentration en ions vanillate de $5 * 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$

Pour déterminer le coefficient directeur de la droite ainsi que l'ordonnée à l'origine, on a un système de deux équations à deux inconnues.

- $a = \frac{1.37 - 0.28}{5 * 10^{-5} - 1 * 10^{-5}} = 2.725 * 10^4 \text{ L.mol}^{-1}$
- $2.725 * 10^4 * 1 * 10^{-5} + b = 0.28$
- $b = 0.28 - 0.2725 = 7.5 * 10^{-3}$ (b est sans unité car l'absorbance n'a pas d'unité)

La loi vérifiée par l'absorbance est donc : $A = 2.725 * 10^4 C + 7.5 * 10^{-3}$

On retrouve bien une loi linéaire avec une ordonnée à l'origine proche de 0 (dans la loi de Beer Lambert, l'ordonnée à l'origine est nulle). On considérera qu'il est bien nul par la suite.

Pour la concentration en ion vanillate de $5.6 * 10^{-5} \text{ mol/L}$, on peut donc en déduire l'absorbance attendue.

$$A = 2.725 * 10^4 * 5.6 * 10^{-5} = 1.91$$

Si l'ensemble de la vanilline a été extraite il est donc préférable de faire une dilution par 10 pour augmenter la précision de la mesure du spectrophotomètre puisqu'on se situe très proche de la limite à 2.

Sans dilution, pour trouver la concentration, on utilise la formule $C = \frac{A}{2.725 * 10^4}$

Travail pratique :

① Extraction de la vanilline

- 1) Placer environ 30 mL de solution saturée de chlorure de sodium NaCl dans un bécher
- 2) Y ajouter précisément 1,0 mL d'extrait de vanille liquide et agiter jusqu'à obtenir un mélange homogène
- 3) Extraire la phase aqueuse 2 fois avec 20 mL de solvant organique. Si une forte émulsion apparaît, rajouter de la solution saturée de NaCl.
- 4) Éliminer la phase aqueuse et rassembler les deux phases organiques en une seule.
- 5) Extraire la phase organique 2 fois avec 50 mL de NaOH. Vérifier à l'aide d'un papier pH que la deuxième phase aqueuse obtenue a un pH supérieur ou égal à 9.
- 6) Rassembler ces deux phases aqueuses dans une fiole jaugée de 250 mL et compléter la fiole jaugée avec la solution de soude à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. On obtient ainsi une solution S.

② Dosage de la solution d'ions vanillinate

- Réaliser la dilution de la solution S d'ion vanillinate discutée lors de la préparation théorique, pour obtenir une solution diluée S'.
 - Faire une mesure de l'absorbance de la solution diluée S' obtenue à la longueur d'onde de travail adaptée que vous avez déterminée à la *question 8*.
- A partir de la mesure effectuée, calculer la concentration molaire en ion vanillinate de la solution S'.
- En déduire la concentration en vanillinate dans la solution S, puis la teneur massique en vanilline dans l'extrait naturel.

? A la fin du TP, rendre un compte-rendu par binôme présentant la démarche suivie pour déterminer la concentration en vanilline dans l'extrait de vanille. Pour cela, aidez-vous de la liste ci-dessous de points à aborder lors de la rédaction du compte-rendu.

Points à aborder lors de la rédaction du compte-rendu type pour une extraction liquide-liquide

Principe de l'extraction par le solvant organique

- Bilan des espèces présentes dans la solution initiale
- Choix du solvant d'extraction
- Mise en place de l'extraction : faire un schéma de l'ampoule à décanter au début de l'extraction puis une fois la décantation terminée. Indiquer quelles espèces chimiques se trouvent dans quelles phases.
- Nombre d'extractions réalisées

Principe de l'extraction par la soude (reprendre les étapes précédentes)

Analyse de la solution aqueuse extraite

- Préparation de la solution S'
- Longueur d'onde choisie, mesure d'absorbance

Résultats et exploitation

- Détermination de la concentration en ions vanillinate dans la solution S'
- Concentration en vanilline dans l'extrait de vanille, comparaison avec les données de l'étiquette

Les gestes manipulateurs à réaliser pour l'ampoule à décanter :

1. Verser le brut réactionnel puis le solvant d'extraction dans l'ampoule à l'aide d'un **entonnoir en verre** afin d'éviter de déposer du liquide sur les parois rodées (ce qui risque de bloquer le bouchon). Ne pas remplir l'ampoule **au-delà des deux tiers** de son volume.
2. Boucher l'ampoule, la retirer de son support et la tenir par une main au niveau du bouchon, l'autre main étant placée au niveau du robinet.
3. Retourner l'ampoule lentement et **ouvrir le robinet** pour effectuer un premier **dégazage**. **Sécurité** : le robinet doit être dirigé vers une **zone inoccupée** comme le fond d'une hotte, car le dégazage peut être violent et provoquer des projections de liquide.
4. Fermer ensuite le robinet, agiter **vigoureusement** l'ampoule et dégazer de nouveau. Cette opération est renouvelée plusieurs fois jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de gaz libéré.
5. Replacer l'ampoule sur l'anneau et **retirer le bouchon**.
6. Attendre que les deux phases se séparent par **décantation**.
7. Lorsque la limite entre les phases est nette, ouvrir le robinet et collecter la première phase dans un erlenmeyer étiqueté.
8. Collecter la seconde phase dans un autre erlenmeyer étiqueté.

S'assurer que le robinet est fermé et toujours placer un erlenmeyer en-dessous en cas de fuite de l'ampoule.

Ne jeter aucune phase avant la fin de la manipulation au risque de jeter la mauvaise.

Astuces

• *Comment identifier la phase aqueuse et la phase organique ?*

Les deux phases sont souvent incolores. Pour les identifier, on peut introduire **quelques gouttes d'eau** pour voir à quelle phase elles s'ajoutent. Il est aussi possible d'ajouter quelques millilitres de solvant organique ou d'eau pour voir la phase correspondante augmenter de volume.

• *Si la décantation n'est pas très efficace ?*

Il peut arriver que l'interface entre les deux phases ne soit pas nette et qu'il s'y forme une **émulsion** : quelques gouttes de phase aqueuse sont piégées dans la phase organique et inversement. Le problème peut parfois être résolu :

- en faisant pivoter l'ampoule autour de son axe au niveau de la partie inférieure ;
- en introduisant une baguette en verre pour agiter légèrement ;
- en ajoutant du solvant organique ou de l'eau ;
- en ajoutant une solution saturée de chlorure de sodium pour augmenter la densité de la phase aqueuse (si c'est la plus dense) ;
- en attendant car une émulsion n'est pas thermodynamiquement stable (mais peut parfois être lente à disparaître).

Si les méthodes précédentes sont inefficaces, le solvant d'extraction doit être changé.

Les gestes manipulateurs pour le spectrophotomètre

La mesure de l'absorbance d'une solution grâce à un **spectrophotomètre mono-faisceau** nécessite de suivre les étapes suivantes :

1. Régler l'appareil à la longueur d'onde choisie.
2. Remplir à l'aide d'une pipette Pasteur, une cuve avec le « **blanc** » qui contient **le solvant et toutes les espèces présentes** en solution excepté le composé d'intérêt.
3. Placer la cuve dans le logement prévu à cet effet. Le faisceau doit traverser les faces transparentes de la cuve. Fermer le capot.
4. Régler l'appareil de sorte que l'absorbance indiquée soit égale à zéro. **On s'affranchit de l'absorbance du solvant et de toutes les espèces chimiques présentes dans le « blanc » ainsi que de la réflexion due à la cuve.**
5. Sortir la cuve, la vider et la **rincer avec la solution à analyser**.
6. Répéter les opérations 2 et 3 avec la solution à analyser.
7. Lire l'absorbance de la solution à analyser à la longueur d'onde choisie.
8. Vider et nettoyer la cuve.

Précaution à prendre lors du remplissage des cuves

- la cuve **ne doit pas contenir de bulles d'air** ;
- la solution doit être limpide : **sans particule en suspension**, pour minimiser les phénomènes de diffusion et de diffraction ;
- les parois de la cuve doivent être **propres** (en particulier exemptes de traces de doigts sur les faces optiques) et **non rayées**. Pour les nettoyer, il faut les essuyer délicatement avec un papier doux (idéalement un **papier optique**).