

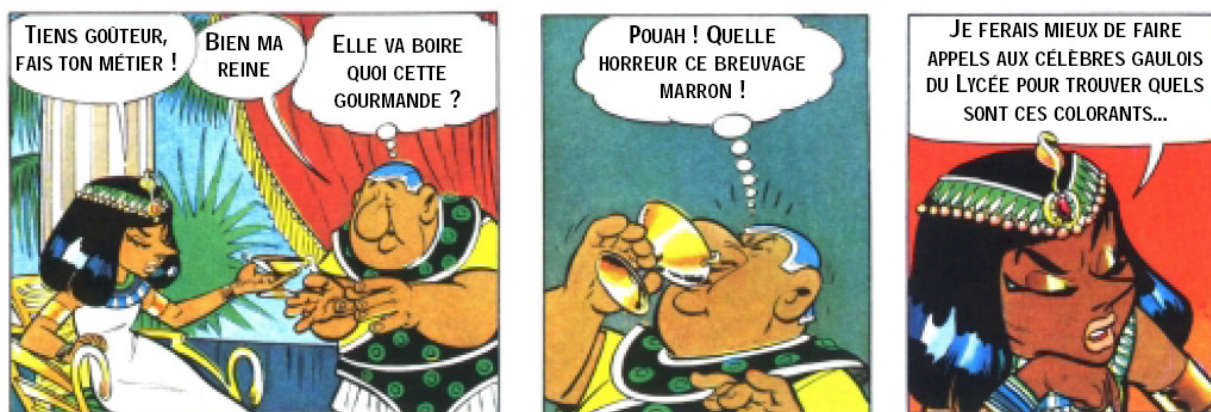
TP n°4 : Chromatographie et identification

Introduction

- ✓ Les médicaments contiennent diverses espèces chimiques. La législation européenne autorise l'emploi des colorants alimentaires, comme le jaune de tartrazine E102, le rouge cochenille E124 et le bleu patenté E131, pour teinter les médicaments.
- ✓ La Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M) peut être utilisée pour analyser de tels mélanges.
- ✓ On se propose de découvrir cette technique en réalisant tout d'abord une CCM de colorants alimentaires. Puis, on appliquera cette méthode pour identifier trois médicaments.

Objectifs du TP :

- ✓ Connaître et comprendre le principe de la C.C.M
- ✓ Réaliser une C.C.M sur l'exemple des colorants alimentaires.
- ✓ Utiliser cette méthode pour identifier trois médicaments.



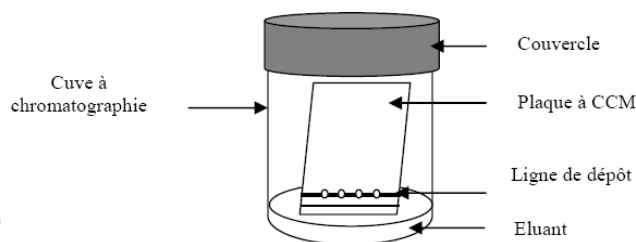
I. I. Informations : Comment réaliser une chromatographie ?

- Vidéo : Principe d'une Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M)
- Fiche méthode 9 : Effectuer une C.C.M (Page 332 du manuel)

Pour **identifier** les constituants d'un mélange, les chimistes réalisent une **chromatographie**. Cette technique repose sur le fait que plusieurs substances mobiles migrent par rapport à un support fixe à des vitesses différentes.

Pour réaliser une chromatographie, on utilise:

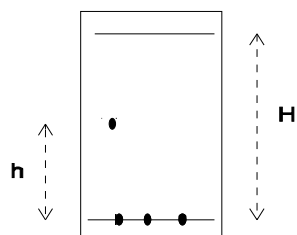
- un **solvant** ou un mélange de solvants appelé **éluant** ou **phase mobile**;
- un **support solide** fixe appelé **phase fixe**: soit une bande de papier Whatman



Protocole expérimental :

- Découper une bande de papier Whatman dont les dimensions sont, en largeur, légèrement inférieure au diamètre de la cuve et en hauteur, légèrement inférieure à la hauteur totale de la cuve.
- Tracer avec un **crayon de papier** un trait horizontal : c'est la **ligne de dépôt**. **Ce trait ne doit pas tremper dans le solvant contenu dans la cuve**. Tracer sur cette ligne des croix régulièrement espacées. Inscrive sous chaque croix un code pour se souvenir de l'espèce déposée. Exemple : J (colorant jaune), V (colorant vert).....
- A l'aide de tubes capillaires ou de pics à apéritif, déposer une **microgoutte** des produits à analyser. **Faire attention à laisser suffisamment d'espace entre les différents produits déposés**. Ensuite, tremper verticalement le papier dans l'éluant, en faisant bien attention à ce que la ligne de dépôt soit au dessus du niveau de l'éluant. **Fermer la cuve et ne pas la déplacer !!!**
- Observer attentivement !
- Quant l'éluant a fini de **migrer**, sortir le papier de la cuve et **repérer le niveau atteint par ce dernier (appelé front de l'éluant)** à l'aide d'un crayon puis sécher le papier au sèche cheveux.

Analyse d'un chromatogramme :



Le rapport frontal est le quotient de la distance parcourue par le composé déposé au départ sur la ligne de dépôt (**h**) par la distance parcourue par l'éluant (**H**) soit :

$$R_f = h / H \quad \text{avec toujours : } R_f < 1$$

Le rapport frontal dépend du composé, de l'éluant. Mais il reste le même que le composé soit pur, dilué ou qu'il soit dans un mélange. Le rapport frontal étant difficilement reproductible, il faut donc disposer d'un échantillon témoin que l'on met aussi sur la plaque.

II. II. Applications aux colorants alimentaires. A toi de faire....

- Réaliser une chromatographie des différents colorants que vous avez à votre disposition sur votre paillasse en suivant les instructions du protocole expérimental.
- Observer **attentivement** ce qui se passe dès que l'on plonge le papier dans la cuve.
- Faire une nouvelle chromatographie si besoin.
- Rédaction d'un **compte-rendu**.

La qualité de la chromatographie, la précision des observations ainsi que la rédaction seront pris en compte dans la notation !



- **Question 1 :** Rédiger avec soin les différentes étapes effectuées pour réaliser la chromatographie.
- **Question 2 :** Qu'observe-t-on une fois que l'on a trempé le papier dans l'éluant ? Tous les colorants migrent-ils à la même vitesse ? Si non, quel colorant migre le plus vite ?
- **Question 3 :** On dit que la plaque et l'éluant sont deux « phases » distinctes. Quelle est la phase liquide ? la phase solide ? Quelle est la phase mobile ? la phase fixe ?
- **Question 4 :** L'éluant entraîne-t-il tous les colorants de la même façon ? Que se passe-t-il pour le colorant alimentaire vert au bout de quelques minutes ? Quelle conclusion pouvez-vous en tirer ?
- **Question 5 :** Que permet donc de faire une chromatographie ? Donner deux fonctions expliquant le principe de la chromatographie, en s'appuyant notamment sur le résultat donné par le colorant vert.
- **Question 6 :** Schématiser le chromatogramme en y portant les annotations des couleurs des différentes tâches.
- **Question 7 :** Toutes les espèces chimiques migrent-elles au même niveau ? Que peut-on dire de deux espèces ayant migré au même niveau ?
- **Question 8 :** Mesurer H et h_{jaune}, h_{rouge}, h_{bleu} etc..
- **Question 9 :** Calculer R_f _{jaune}, R_f _{rouge}, R_f _{bleu} et les différents rapports pour le colorant vert.
- **Question 10 :** Reproduire et compléter le tableau ci-dessous. Puis coller sur votre compte-rendu la chromatographie.

| | Bleu | Jaune | Rouge | Vert | |
|----------------------|------|-------|-------|------|--|
| h (cm) | | | | | |
| R_f | | | | | |

- **Question 11 :** En déduire la composition des colorants alimentaires étudiés. Quel colorant est un corps pur ? Quel colorant est un mélange ?

I. III. Identifier trois médicaments...

Par mégarde, un pharmacien a mélangé les comprimés de 3 médicaments dont on fournit les notices ci-dessous. On se propose de l'aider à identifier le nom de chacun d'eux en réalisant une chromatographie.



ASPIRINE DU RHÔNE®
 Forme : comprimé

| | |
|-------------------------|------------------|
| Acide acétylsalicylique | par cp 500 mg |
|-------------------------|------------------|

 Excipients : amidon de maïs, cellulose poudre.
 Classement pharmaco-thérapeutique : Antalgique/antipyrétique ; salicylé (formes sèches à délitement rapide)



Composition
 La substance active est :
 Paracétamol1000,00 mg
 Les autres composants sont :
 Povidone, amidon pré-gélatinisé, carboxyméthylamidon sodique (typeA), talc, stéarate de magnésium pour un comprimé.



ACTRON®
 Forme : comprimé effervescent

| | |
|-------------------------|---------------|
| | par cp efferv |
| Acide acétylsalicylique | 267 mg |
| Paracétamol | 133 mg |
| Caféine | 40 mg |

 Excipients : bicarbonate de sodium, acide citrique.
 Classement pharmaco-thérapeutique : Antalgique/antipyrétique : association non opiacée

Protocole expérimental :

- Prendre une nouvelle bande de papier Whatman et tracer le ligne de dépôt. (*Relire partie I si nécessaire*)
- Préparer la cuve à élution en utilisant l'éluant adapté à la CCM des médicaments.
- **Préparation des médicaments à la C.C.M**
 - Prendre 3 coupelles propres pour chacun des 3 médicaments.(A ; B ; C)
 - Verser dans chacune 1 mL d'acétate de butyle et y ajouter une pointe de spatule de chacun des comprimés réduit en poudre
 - Placer une migrogoutte de chacun des solutions ainsi préparée sur la ligne de dépôts.
- **Question 12** : Représenter en grandeur réelle le chromatogramme
- **Question 13** : Les solutions A, B et C contiennent-elles des espèces chimiques pures ? Justifier
- **Question 14** : Après avoir examiné les étiquettes des 3 médicaments, est-il possible d'identifier l'un d'entre eux ? Préciser lequel et justifier.
- **Question 15** : Sachant que le rapport frontal du paracétamol vaut 0,25, identifier les deux autres médicaments
- **Question 16** : Quelle est l'espèce chimique qui a le plus d'affinité pour l'éluant ?, pour la silice ?

Liste du matériel**→ Par poste**

- Cuve à élution
- 2 feuilles de papier Whatman
- Pics apéritifs ou capillaire
- Sèche cheveux
- Colorants alimentaires : Bleu, Vert, jaune, rouge
- 1 comprimé d'aspirine du Rhône 500 mg ; 1 comprimé doliprane 1000 mg , 1 comprimé Actron
- 4 coupelles en plastique
- 1 bécher 100 mL

→ Paillasse

- Lampe à UV
- Eluant pour la C.C. M des colorants alimentaires
(A préparer pour 16 groupes.... Soit 300 mL environ)

Mélange éthanol + chlorure de sodium (40g.L-1) dans les proportions respectives :
1 mL d'éthanol pour 5 mL d'eau salée.

- Eluant pour la C.C. M des médicaments
(A préparer pour 16 groupes.... Soit 300 mL environ)

Mélange d'acide méthanoïque, de cyclohexane et d'acétate de butyle dans les proportions respectives : 1 mL, 4 mL et 6 mL.