

LA CHIMIE DE LA SÉPARATION ET DE L'IDENTIFICATION PAR CHROMATOGRAPHIE

En 1906, un botaniste russe Mikhaïl Semenovitch TSWETT purifie des pigments végétaux, comme la chlorophylle, sur une colonne de craie. Il donne alors à ce phénomène de séparation le nom de chromatographie (du grec *chrôma*, couleur et *graphein*, écrire) qu'il définit comme l'enregistrement graphique des couleurs. On assiste alors à la naissance de la chromatographie, dont la définition a fortement évolué.

LA CHROMATOGRAPHIE À LA MAISON

A. Principe de la chromatographie (voir livre p201)

La chromatographie est une méthode permettant de séparer et d'identifier les espèces chimiques présentes dans un mélange. Son principe repose sur le fait que les constituants du mélange possèdent une affinité différente vis à vis de deux phases :

- un support, appelé **phase stationnaire**. Ce peut être par exemple un milieu poreux fait de sable ou de silice ou une feuille en papier ou en carton.
- un solvant, mobile, liquide, appelé **éluant** qui pénètre dans la phase stationnaire et qui monte par capillarité (comme dans un buvard). Cet éluant ne doit pas réagir avec les constituants à séparer.

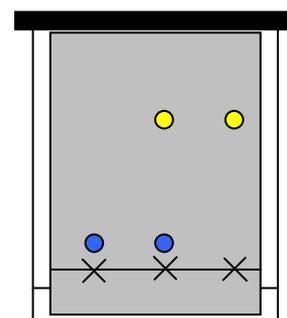
Le mélange des constituants A, B,... est déposé sur la phase stationnaire, au-dessus de l'éluant. La montée de l'éluant le long de la phase stationnaire sépare les constituants en fonction de leur différence d'affinités vis à vis du support ou de l'éluant. Si A est plus soluble dans l'éluant que B, il sera entraîné plus vite, alors que B, plus retenu par la phase stationnaire montera moins vite. On peut ainsi **séparer les deux constituants**.

Vous pouvez consulter une animation de cette technique à l'adresse http://www.spc.ac-aix-marseille.fr/phy_chi/Menu/Activites_pedagogiques/cap_exp/animations/ccm.html et une vidéo à l'adresse <mms://stream.pedagogie.ac-aix-marseille.fr/spc/ccm.wmv>

B. Expérience domestique et colorée

Le but de cette expérience est de montrer que l'encre présente dans les feutres de couleurs est constituée de plusieurs colorants que l'on peut séparer par chromatographie. Pour cela :

- ① Verser un peu d'eau dans un verre à fond plat selon le schéma ci-contre.
 - ② Préparer le support à la bonne dimension pour entrer dans le verre (un morceau de carton plastifié type boîte de céréales d'environ 5 cm x 6 cm fera l'affaire) et faire un trait au crayon à 1 cm du bas. **Attention, le trait doit être au-dessus du niveau de l'eau !**
 - ③ Réaliser des tâches, à intervalles réguliers, pour trois ou quatre couleurs de feutre (par exemple noir, vert, bleu, jaune) sur le trait du côté cartonné (appliquer plusieurs fois le feutre pour obtenir une tâche bien colorée).
 - ④ Plonger le support dans le verre et couvrir avec une soucoupe (ou tout autre couvercle).
 - ⑤ Observer ce qui se passe en attendant et **sortir la plaque lorsque l'éluant a migré jusqu'à environ 1 cm du bord supérieur du support**. Répondre aux deux questions suivantes :
1. Quelles sont l'éluant et la phase stationnaire dans votre expérience ?
 2. Quels colorants constituent chacune des « couleurs » que vous avez déposées sur le support ?



CONSERVER LA PLAQUE OBTENUE ET L'APPORTER POUR LA SÉANCE DE TP

IDENTIFICATION DES PRINCIPES ACTIFS DANS TROIS MÉDICAMENTS

CONTEXTE DU SUJET :

Jamal Alatet désire prendre rapidement un médicament pour soigner une fièvre. Il dispose de trois médicaments contre les douleurs et fièvres :

- l'Aspirine du Rhône[®] 500 mg,
- le Doliprane[®] 500 mg,
- le Novacétol[®].

Malheureusement Jamal les a mélangés dans sa pharmacie ! Il doit être très vigilant car il est allergique à l'aspirine.

Il faut donc l'aider à identifier les principes actifs des trois médicaments.

Pour cela, on dispose de trois médicaments M_1 , M_2 et M_3 et d'acide acétylsalicylique pur.

Votre mission est d'identifier par chromatographie, les médicaments M_1 , M_2 et M_3 .

Les espèces chimiques étudiées sont chacune disponibles dans une solution d'éthanol (1 comprimé broyé dans 10 mL d'éthanol). L'éluant utilisé est un mélange de 60% d'acétate de butyle, de 40% de cyclohexane et de quelques gouttes d'acide acétique.

Document 1 : Chromatographie sur couche mince

Dans la Chromatographie sur Couche Mince (C.C.M) la phase stationnaire est un gel de silice (SiO_2) ou d'alumine (Al_2O_3) déposé sur un support rigide (feuille métallique). L'éluant migre spontanément par capillarité en entraînant les constituants du mélange à séparer.

La séparation des différents constituants du mélange est due à leur différence d'affinité vis-à-vis de la plaque ou de l'éluant.

Pour un éluant et un support donnés, une espèce chimique migre de la même façon qu'elle soit pure ou dans un mélange. L'identification se fait par comparaison avec des espèces chimiques pures. Deux espèces qui migrent à la même hauteur lors d'une chromatographie sont identiques.

Réalisation d'une C.C.M.

The diagram shows three stages of the chromatography process:

- 1** Le mélange est déposé sur la phase fixe. (The mixture is deposited on the stationary phase.)
- 2** L'étape d'éluion permet de séparer les différentes espèces chimiques : la phase fixe retient les espèces alors que l'éluant mobile les entraîne. (The elution step allows for the separation of different chemical species: the stationary phase retains the species while the mobile solvent carries them.)
- 3** Si des espèces chimiques ne sont pas colorées, la plaque est ensuite révélée pour faire apparaître les taches. (If chemical species are not colored, the plate is then revealed to make the spots appear.)

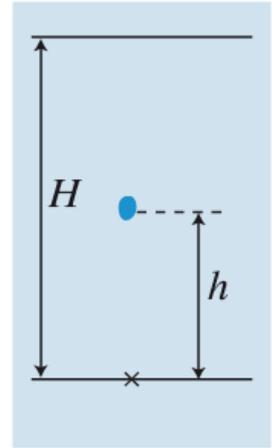
Labels in the diagram include: cuve fermée, front de l'éluant, ligne de dépôt, éluant, front de l'éluant, ligne de dépôt, and H/h.

Document 2 : Un outil important : le rapport frontal

Chaque constituant (espèce chimique) est caractérisé par son rapport frontal R_f .

Pour une plaque et un éluant déterminés, le rapport frontal R_f ne dépend que de la nature de la substance présente ; il est indépendant de la présence d'autres substances chimiques dans le mélange étudié.

Deux corps présentant le même rapport frontal R_f sur un même chromatogramme sont identiques, ainsi les constituants d'un mélange peuvent être identifiés par comparaison de leurs déplacements (ou R_f) à ceux d'autres corps purs connus.



On définit le **rapport frontal** R_f d'une espèce chimique pour un éluant considéré :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par l'espèce chimique}}{\text{distance parcourue par l'éluant}} = \frac{h}{H} \quad R_f \text{ est une grandeur sans unité}$$

Document 3 : Les notices des médicaments étudiés

ASPIRINE DU RHONE® 500 mg

Composition : Acide acétylsalicylique 500 mg. Excipients : amidon, gel de silice.

Classe thérapeutique : Antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire à dose élevée, antiagrégant plaquettaire.

Mode d'administration : Doit être utilisé de préférence avant ou au cours d'un repas même léger. Absorber les comprimés après les avoir fait désagréger dans un verre d'eau.

Contre indications : Ne doit pas être utilisé en cas d'ulcère de l'estomac ou du duodénum, de maladies hémorragiques.

DOLIPRANE® 500 mg

Composition : Paracétamol : 500 mg. Excipients : lactose, amidon prégélatinisé, amidon de blé, talc, carboxyméthylamidon, stéarate de magnésium pour un comprimé.

Classe thérapeutique : Antalgique, antipyrétique.

Mode d'administration : Les comprimés sont à avaler tels quels avec une boisson (eau, lait ou jus de fruit).

Contre indications : Allergie au paracétamol

NOVACÉTOL®

Composition : Paracétamol : 250 mg, Acide acétylsalicylique : 300 mg, Codéine : 10 mg
Excipients : acide stéarique, hypromellose, silice, cellulose microcristalline, amidon de maïs.

Classe thérapeutique : Antalgique, antipyrétique.

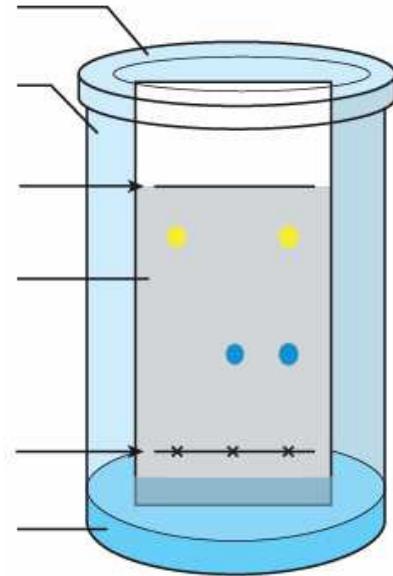
Mode d'administration : Les comprimés sont à délayer ou à avaler tels quels avec une boisson (eau, lait ou jus de fruit).

Contre indications : Allergie au paracétamol et à l'aspirine, maladie grave du foie, ulcère à l'estomac.

TRAVAIL À EFFECTUER

S'APPROPRIER

1. Mettre une légende au montage expérimental de chromatographie ci-dessous :



2. Pourquoi la technique de chromatographie est-elle une technique de séparation ?

3. Pourquoi la technique de chromatographie est-elle une technique d'identification ?

RÉALISER

Manipuler les plaques CCM par la tranche pour éviter les traces de doigts !

- Sur une plaque de CCM, tracer avec soin (sans appuyer) la ligne de base à 1,5 cm du bas de la plaque.
Préparer la cuve à chromatographie en y plaçant de l'éluant et en la refermant.
Vérifier que la ligne se situe bien au dessus du niveau d'éluant dans la cuve.
Tracer quatre traits équidistants notés M_1 , M_2 et M_3 et **AA** pour l'acide acétylsalicylique.
- Réaliser chaque dépôt à l'aide d'une pointe fine sans appuyer sur la plaque.
 - Garder la pointe bien verticale et répéter des dépôts brefs pour obtenir des taches fines et concentrées.
 - Changer de pique pour chaque échantillon.
 - Vérifier la qualité des dépôts à la lampe UV.
- Placer délicatement la plaque dans la cuve et laisser migrer l'éluant jusqu'à environ 1 cm du bord supérieur de la plaque (vérifier régulièrement la migration, elle peut durer plus de 10 min).

Pendant l'élution, ne pas faire bouger la cuve, complétez votre compte-rendu de TP

- Sortir la plaque, **tracer immédiatement** au crayon de papier la ligne repérant le niveau atteint par l'éluant appelée **front de l'éluant**.
- Sécher la plaque.

Le chromatogramme obtenu n'est pas visible à l'oeil nu ! Il faut donc révéler les taches.

4. Éclairer la plaque à l'aide d'une lampe UV **en la tenant avec une pince en bois** et entourer au crayon de papier les taches qui apparaissent.

Reproduire le chromatogramme obtenu :

5. Faire les mesures des hauteurs h et H pour l'acide acétylsalicylique.

Calculer le rapport frontal R_f de l'acide acétylsalicylique :

VALIDER

6. Les trois médicaments contiennent-ils un seul principe actif ? Justifier.

7. Identifier les médicaments contenant de l'acide acétylsalicylique ? Justifier.

8. Existe-t-il une autre espèce chimique commune à certains des médicaments étudiés ? Justifier.
À l'aide des notices, identifier quelle est cette autre espèce chimique.

9. À l'aide des notices, identifier les trois médicaments M_1 , M_2 et M_3 .

10. Quel médicament Jamal doit-il prendre ?