

Objectifs du TP:

- Connaître le principe de la chromatographie,
- réaliser une chromatographie sur couche mince (CCM),
- Appliquer la CCM à la séparation des espèces d'un mélange et à l'analyse.

**I- Définition de la chromatographie**

Le mot chromatographie vient du grec *chrôma* : la couleur. A l'origine, c'était une technique de séparation de substances colorées. Aujourd'hui elle est utilisée pour tous types de mélanges, même ceux qui ne sont pas colorés.

La chromatographie est une méthode physique de séparation et d'identification des espèces chimiques contenues dans un mélange.

II- Séparation et identification des constituants du colorant d'un médicament**II-1- Votre mission :**

Pour reconnaître les différents médicaments, l'industrie pharmaceutique colore les cachets et les gélules. Les colorants utilisés sont ceux de l'industrie alimentaire.

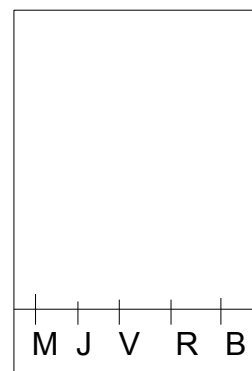
Vous êtes membre d'un laboratoire indépendant et vous souhaitez notamment vérifier si les colorants utilisés comme excipients dans un nouveau médicament sont autorisés. Vous devez séparer les colorants afin de les identifier. Pour cela vous allez devoir utiliser la chromatographie sur papier.

Matériel mis à disposition :

Colorant pour médicament : cuves chromatographiques, cure-dents, papier chromatographique (Whatman), eau salée, divers colorants alimentaires.

II-2- Réalisation de la CCM (Chromatographie sur Couche Mince)

1. Tracer, sans appuyer, et au crayon à papier **un trait horizontal à 2 cm du bord inférieur de la feuille de papier Whatman et une ligne de front à 1,5 cm du bord supérieur**. Faire 5 repères sur ce trait, bien espacés les uns des autres.
2. Verser environ 15 à 20 mL d'éluant (eau salée) dans le fond du bécher, placer le couvercle au-dessus du bécher, agiter légèrement puis laisser au repos.
3. Pour repérer les différents composés à analyser, écrire au crayon à papier en dessous de la ligne : M (pour **M**édicament), J (pour **J**aune), V (pour **V**ert), R (pour **R**ouge) et B (pour **B**leu).
4. A l'aide de différentes pipettes (une par encre), déposer une toute petite goutte des solutions préparées (*faire 2 dépôts si la tâche est trop petite*)
5. Sécher les dépôts à l'aide du sèche cheveu
6. Verser environ 20 mL d'éluant (solution aqueuse de chlorure de sodium) dans la cuve à chromatographie
7. Placer le tout sur le pot en s'assurant que la bande de papier trempe dans la solution, sans que les taches soient immergées.
8. Quand l'éluant a atteint la ligne de front, retirer le chromatogramme de la cuve puis le sécher au sèche cheveux



II-3- Analyse du chromatogramme

1. Représenter ou coller le chromatogramme obtenu.
2. Noter vos observations.
3. Expliquez le rôle joué par l'éluant et par le papier au cours de cette expérience.
4. Mesurer la hauteur H atteinte par l'éluant et la hauteur h (*h est mesurée au milieu de la tache*) parcourue par chaque constituant des différents colorants analysés.

L'espèce chimique présente dans une tache est caractérisée par son **rapport frontal** R_f défini

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

Présenter un tableau où figureront pour chaque colorant : les hauteurs d'élution h de chaque espèce présente et leur rapport frontal R_f .

5. Quel est l'intérêt de mesurer le rapport frontal d'une espèce chimique ?
6. En comparant les R_f , que pouvez-vous dire de la composition du colorant vert et de celui du médicament.

III- Application à l'analyse des espèces chimiques extraites des clous de girofle

Lors du TP précédent (TP3-B), nous avons extrait des espèces chimiques de clous de girofle par extraction par hydrodistillation. On souhaite vérifier que la substance extraite par hydrodistillation est bien identique à l'eugénol du commerce (principal constituant aromatique du clou de girofle), réalisons une chromatographie sur couche mince (CCM).

Attention ! la plaque de chromatographie est ici une plaque de silice qui est très fragile !

Attention ! ne pas mettre de traces de doigts sur cette plaque donc utiliser des pinces métalliques !

III-1-Réalisation de la chromatographie

1. Préparer la plaque de chromatographie comme lors de l'expérience précédente.
2. Déposer très précisément à l'aide d'une pipette (un par produit) une goutte de :
 - la solution d'extraction des clous de girofle par hydrodistillation
 - l'eugénol commercial dilué dans le cyclohexane.
3. Sécher la plaque pour évaporer le solvant et vérifier la taille des taches déposées grâce à la lampe à UV (**en se protégeant les yeux avec des lunettes**). Faire si besoin d'autres dépôts et sécher entre chaque dépôt pour obtenir une tache d'environ 2-3 mm.
4. Dans la cuve de chromatographie fermée par un couvercle (**et remplie d'une solution préparée par le professeur contenant du cyclohexane et de l'acétate d'éthyle** , introduire délicatement mais rapidement la plaque dans la cuve. Puis **BIEN FERMER LA CUVE**.

Attention à ne pas éclabousser de l'éluant sur la plaque !

Attention à ce que les dépôts ne trempent pas dans l'éluant !

ATTENTION : ne pas jeter l'éluant à l'évier !!!

5. Lorsque l'éluant a atteint la ligne de front, sortir la plaque et la sécher afin d'évaporer complètement l'éluant.
6. Puisque les taches ne se voient pas à l'œil nu, il va falloir les révéler : placer la plaque sous une lampe à UV (en se protégeant les yeux avec des lunettes) et entourer délicatement (sans abîmer la couche de silice) les taches obtenues.

III-2-Analyse du chromatogramme

1. Dessiner ou coller le chromatogramme obtenu.
2. Pourquoi est-il nécessaire de révéler ?
3. Interpréter le chromatogramme obtenu.

TP 10 C	La chromatographie sur couche mince - Matériel	2nde
----------------	---	-------------

Matériel sur le bureau

- 2 sèche cheveux
- plaques CCM découpées : gel de silice sur plaque aluminium (1 par groupe : 18 au total)
- 18 bandes de papier Whatman pour bécher de 250 mL
- 3 règles graduées
- Dispositif de chromatographie
- une bouteille étiquetée chlorure de sodium (500 mL), contenant une solution saturée de chlorure de sodium + bécher de service
- Eugénol commercial (+petit bécher de service)
- Eugénol hydrodistillation du TP précédent (+ petit bécher de service)
- 4 jeux de colorants alimentaires (jaune, vert, rouge, bleu).
- 1 petite bouteille (avec mélange de colorants jaune, rouge et bleu) étiquetée **Colorant du médicament**
- 4 soucoupes en porcelaine
- lampes UV
- Cure dents (pour les colorants)
- Pipettes pasteur (pour eugénol)

SOUS HOTTE :

- une bouteille étiquetée ELUANT POUR eugénol (50 % cyclohexane + 50 % éther diéthylique)
(15 mL/gpe soit $15 \times 18 = 270$ mL)
- **9 cuves à chromatographie avec couvercles remplies de 15mL d'éluant (ainsi élèves ne le manipulent pas trop)**

Paillasse élèves (9 groupes) :

- une pince
- pissette d'eau distillée
- pour la CCM des colorants : 1 bécher de 250 mL + boîte de pétri (couvercle)
- éprouvette graduée 50 mL