

La chromatographie sur couche mince (CCM)

Principe et mise en œuvre

C'est une technique qui permet de séparer les constituants d'un mélange pour divers objectifs :

1/ Préparation d'une chromatographie

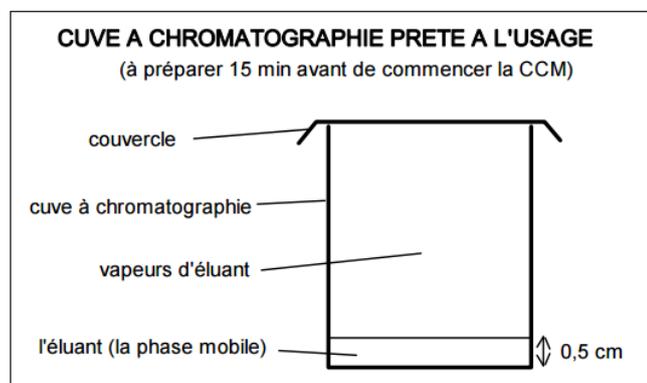


Schéma n°1

la plaque.

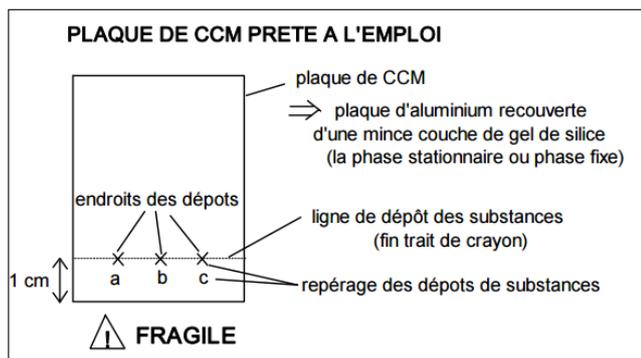


Schéma n°2

- On prépare la cuve en y mettant l'éluant et en couvrant pour que la cuve conserve les vapeurs de cet éluant (schéma n°1)
- En dehors de la cuve, les mélanges à étudier sont déposés sur la plaque de CCM (schéma n°2): celle-ci est recouverte d'un gel de silice, **la phase stationnaire**. On utilise des tubes capillaires très fins pour déposer des petites tâches des échantillons étudiés. (Les substances se fixent ainsi sur le gel de silice)

Remarque : les échantillons solides doivent être dissous dans un petit peu de solvant avant d'être déposés sur

ATTENTION: les plaques de CCM sont fragiles.

* Y tracer de légers traits de crayon pour ne pas rayer la silice;

* Ne pas y mettre les doigts.

- On repère chacun des dépôts par une légère marque au crayon (1, 2... ou A, B... ou initiales des échantillons...)

- On sèche la plaque pour évaporer le solvant qui accompagne les substances à analyser.

2/ Réalisation de la chromatographie

- On place délicatement la plaque dans la cuve et on couvre: la ligne de dépôts doit être au-dessus de la surface de l'éluant (schéma n°3) L'élution a lieu: l'éluant monte par capillarité le long de la silice de la plaque.
- Quand l'éluant est parvenu à environ 1 cm du sommet de la plaque:
 - on sort la plaque de la cuve
 - sans attendre (car l'éluant risque de s'évaporer très vite), on marque la position atteinte par le front de l'éluant (ligne supérieure de la partie humide de la plaque)
 - on sèche la plaque

Phénomènes observables :

Pendant l'élution : Les substances déposées, entraînées par l'éluant, migrent le long de la phase stationnaire (le gel de silice). Deux phénomènes sont en compétition: chaque substance est soumise à deux interactions vis à vis

d'une part de la silice et d'autre part de l'éluant (phase mobile). Chaque substance va ainsi pouvoir être caractérisée par sa migration plus ou moins importante le long de la plaque :

- si une substance est particulièrement soluble dans l'éluant, elle sera d'autant plus entraînée par celui-ci et montera haut sur la plaque.
- si la substance a plus d'affinité pour la phase stationnaire (la silice), elle sera davantage retenue par celle-ci et migrera peu (elle restera assez bas sur la plaque)

Après l'éluion : Pour étudier les positions occupées par les substances, on observe les taches qu'elles laissent sur la plaque:

- si ces taches sont colorées, l'étude est immédiate
 - si ces taches sont incolores (cas fréquent) il faut pratiquer une révélation afin de les rendre visibles.
- Différentes méthodes de révélation seront envisagées

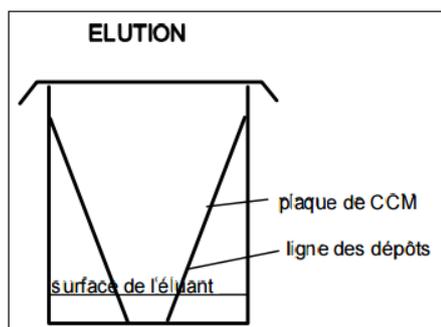


Schéma n°3

3/ Exploitation du chromatogramme

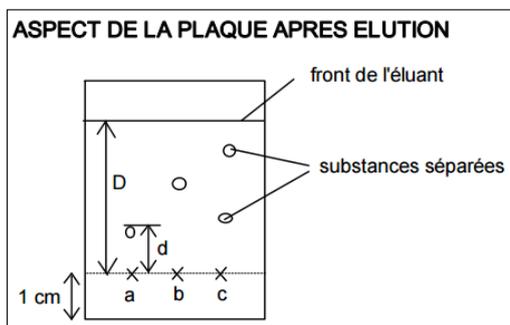


Schéma n°4

Le chromatogramme correspond à l'aspect de la plaque à l'issue de la chromatographie (voir schémas n°4) On détermine, pour chacun des constituants qui ont migré, un rapport frontal : R_f par: $R_f = d/D$ (sans unité) où d désigne la distance parcourue par la substance (en utilisant le haut de la tache) et D désigne la distance parcourue par le front de l'éluant (à partir de la ligne des dépôts) .

La valeur du R_f est caractéristique d'une substance. Elle dépend de la composition de l'éluant utilisé.

Lorsque deux taches de deux dépôts différents ont le même R_f (c'est-à-dire qu'elles sont à la même hauteur sur la plaque), on peut considérer qu'elles correspondent à la même substance.