



FICHE TECHNIQUE : PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

I Principe

Le mélange est fixé sur un support appelé **phase stationnaire** (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium). Il est entraîné par un solvant approprié (phase mobile ou **éluant**) qui migre par capillarité sur la plaque. Les constituants du mélange se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins **adsorbé** sur la phase stationnaire.

Après migration les taches doivent être révélées ; c'est la détection qui peut se faire soit :

- Pulvérisation d'un réactif caractéristique
- Par immersion dans un bain de permanganate de potassium
- Par pulvérisation de vapeur de diiode
- Par observation à la lumière UV si la plaque de silice comporte un indicateur de fluorescence

II Mode opératoire

Les opérations décrites dans ce paragraphe sont valables pour toutes les CCM

1) Préparation de la cuve :

- a. L'atmosphère de la cuve doit être saturée en vapeur d'éluant. Ceci impose d'avoir une cuve bien fermée et préparée un certain temps à l'avance.
- b. Le niveau de l'éluant au fond de la cuve doit être de 5 à 8 mm.

2) Les Plaques de CCM :

- a. La couche d'adsorbant est fragile, éviter de mettre les doigts sur les plaques.
- b. Repérer à l'avance l'emplacement où seront effectués les dépôts. Pour cela, tracer un léger trait de crayon parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 2 cm.
Les dépôts seront effectués sur cette ligne, à 1cm du bord de la plaque et espacés de 1cm. (voir schéma).

3) Dépôt du mélange et de l'authentique (ou des authentiques) :

- a. Les solutions avec lesquelles on va réaliser les dépôts doivent être des solutions diluées.
- b. Pour effectuer les dépôts, on utilise généralement des tubes capillaires en verre ou des « piques à apéritif » dont le bout a été écrasé.
- c. Il faut déposer la solution pendant une durée très brève afin d'éviter l'étalement du dépôt.
- d. Ne pas trop appuyer, pour ne pas détériorer la couche d'adsorbant.

4) Elution :

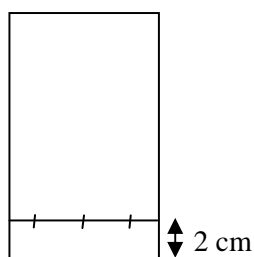
- Disposer la plaque dans la cuve, le dépôt doit être au-dessus du niveau de l'éluant. (voir schéma)
- Éviter de déplacer la cuve ou de la faire vibrer pendant l'éluition.
- Quand le front de l'éluant arrive à 1 cm du bord supérieur, retirer doucement la plaque, marquer au crayon le niveau atteint par le front de l'éluant (hauteur H).
- Sécher la plaque à l'air ou éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant.

5) Révélation :

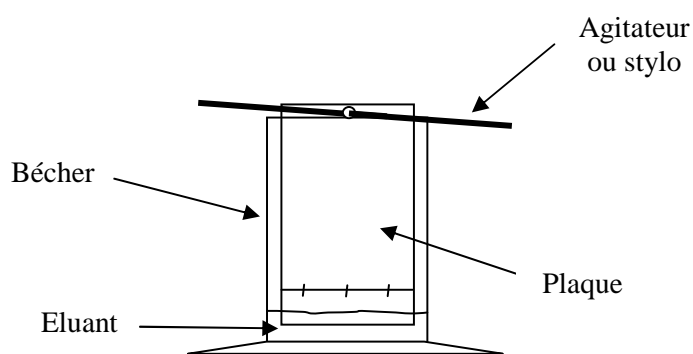
- Si les constituants sont colorés, ils sont directement visibles sur la plaque.
- La révélation aux UV permet de mettre en évidence sous forme de taches sombres des substances qui absorbent les UV, elle nécessite l'emploi de plaques particulières comportant un révélateur UV.
- Les autres méthodes de révélation sont des méthodes chimiques : on met la plaque en contact avec un réactif plus ou moins spécifique de certaines fonctions, qui donne un produit coloré par réaction chimique avec les substances à révéler.(MnO_4^- , I_2 , etc...)
- Mesurer les hauteurs h de migration des différentes tâches et calculer les rapports frontaux

$$R_f = \frac{h}{H} . \text{ Identifier la (les) substance(s) par rapport au(x) authentique(s).}$$

Schémas :



Comment placer les dépôts



Une méthode simple pour maintenir la plaque