

TECHNIQUE

LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE (CCM)

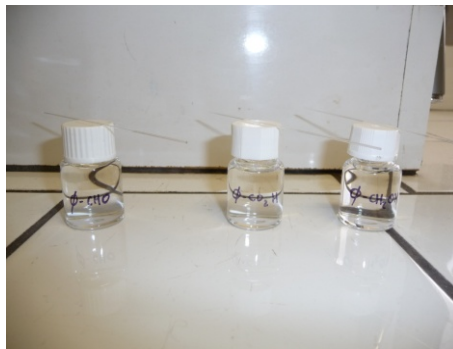
**PRINCIPE :**

La CCM est une méthode d'identification d'espèces chimiques basée sur la séparation des constituants d'un mélange par interaction entre une phase stationnaire (ici la silice) et une phase mobile : l'éluant (mélange de solvants). Ainsi, en fonction de la polarité des espèces chimiques, de leur possibilité à former des liaisons hydrogène avec la silice, du choix de l'éluant, les différentes substances ne migreront pas à la même vitesse le long de la plaque.

Réalisation de l'éluant

Choix des solvants
+ matériel

Un volume de 10 mL d'éluant est en général suffisant.



Témoins utilisés pour faire la ccm

On prélève quelques gouttes de substances pures que l'on dissout dans 1 à 2 mL de solvant.

Ces témoins serviront pour l'analyse comparative de la plaque. En général se sont les réactifs utilisés pour une réaction et éventuellement le produit de réaction si on en dispose.

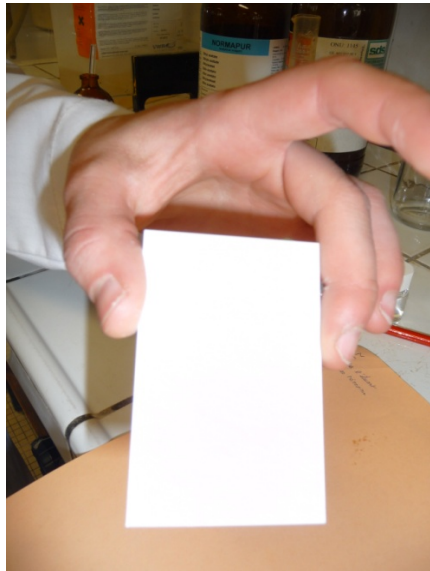


- Cuve à élution (pot à confiture avec couvercle)
- Capillaires : pour faire les dépôts sur la plaque
- Plaques de silice avec indicateur de fluorescence
- Bêcher poubelle



Cuve à élution contenant environ 10 mL d'éluant ce qui correspond à environ 0,5 cm de hauteur d'éluant.

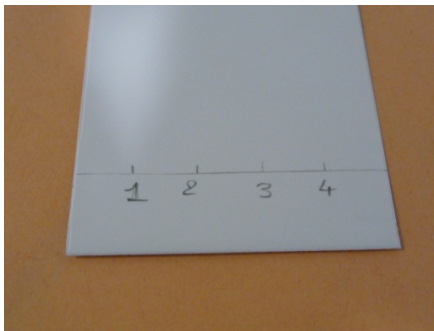
Fermer le pot afin de permettre la saturation en éluant de la cuve.



Ne pas mettre ses doigts sur la silice cela risque de fausser l'analyse. La prendre par les côtés ou la partie supérieure.



A 1 cm du bord inférieur, tracer au crayon à papier un trait fin : ligne de dépôt

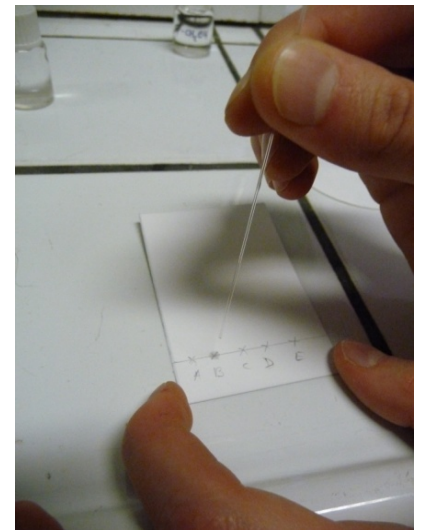


Marquez par des croix ou (traits) les emplacements correspondant aux échantillons à déposer
Numéroter les emplacements pour un repérage plus facile des différents dépôts.
Garder un espace minimum entre les croix (environ 1 cm)

En général : une croix pour le mélange réactionnel à analyser, une croix pour chacun des réactifs et, si on dispose du produit pur comme référence, une croix pour celui-ci.



« Laver » plusieurs fois un capillaire avec le produit à déposer (deux à 3 fois). Utilisez pour cela un papier filtre.



déposer l'échantillon sur l'emplacement correspondant en appuyant délicatement le capillaire sur la silice, la tâche ne doit pas dépasser 0,5 cm de diamètre. Plus on laisse le capillaire appuyé sur la silice, plus la tâche s'étale

Attention à la manipulation du capillaire (très fragile et coupant)

Réitérer l'opération avec les autres espèces à déposer.



Introduire délicatement la plaque dans la cuve en la tenant par les côtés (ou par la partie supérieure).
Veiller à ce que la ligne de dépôt ne soit pas au contact de l'éluant.



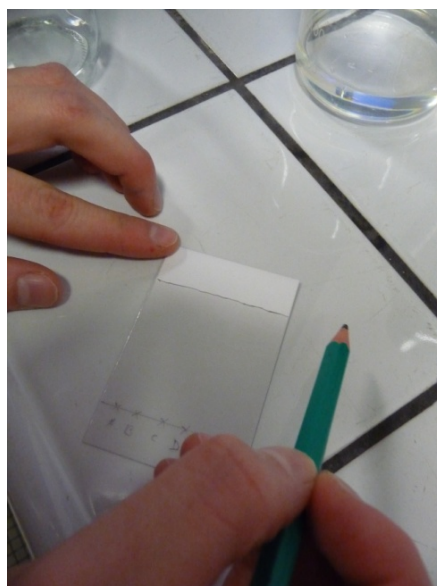
Refermer la cuve.

Ne surtout pas déplacer cette cuve et laisser éluer.

L'éluant monte par capillarité le long de la phase stationnaire (silice SiO_2) en entraînant avec lui les différentes espèces chimiques contenues dans le mélange déposé. En fonction de la nature de ces espèces et de la nature plus ou moins polaire de l'éluant (la silice étant polaire et pouvant former des liaisons hydrogène) l'élution de ces espèces chimiques ne se fait pas à la même vitesse. On obtiendra donc des tâches à des hauteurs différentes.



Quant le front de l'éluant est à environ 1 cm du bord supérieur, on sort délicatement la plaque de silice.

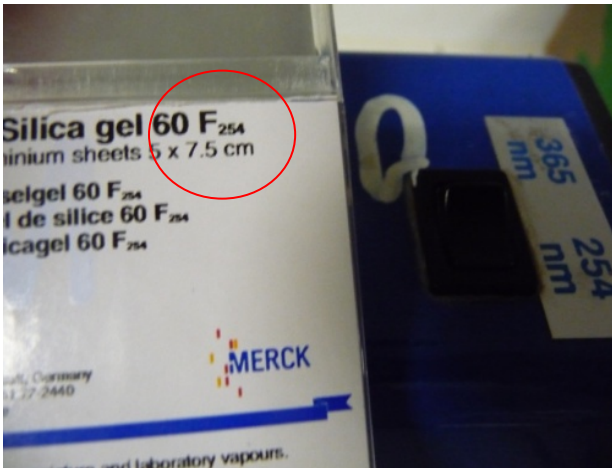


On trace, au crayon à papier, un trait pour repérer le front de l'éluant. (cela servira à calculer les rapports frontaux)



On sèche la plaque à l'aide d'un sèche-cheveux, pour évaporer l'éluant adsorbé sur la plaque

REVELATION DE LA PLAQUE



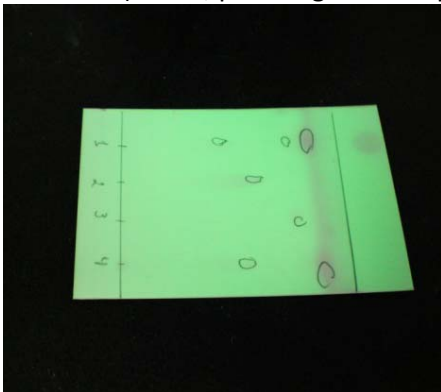
La plaque de silice utilisée contient un indicateur de fluorescence. La longueur d'onde d'excitation est de 254 nm.

Si les substances déposées absorbent dans l'UV, elles masqueront la fluorescence à l'emplacement de la tâche. On aura ainsi une zone sombre sur un fond fluorescent.

Attention : si les substances déposées n'absorbent pas en UV il faut trouver un autre moyen de révélation (diode, permanganate de potassium,...)

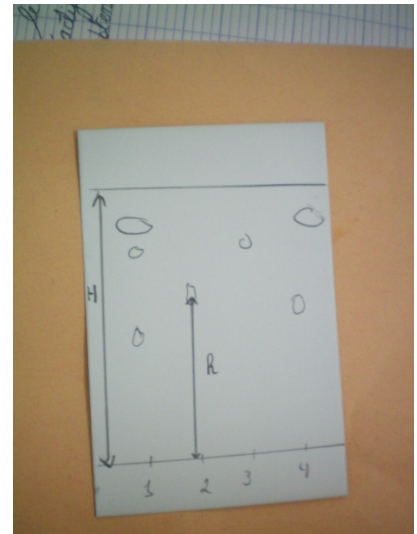
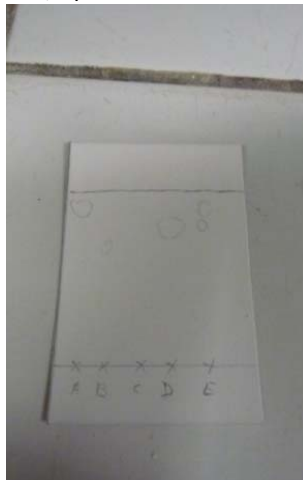


Révélation sous lampe UV (danger) dont la longueur d'onde est fixée à 254 nm.



Les tâches apparaissent sombre et la plaque « vert fluo »

On entoure au crayon à papier les différentes tâches



On exploite la CCM, comparaison des hauteurs de migration des différentes substances, calculs des R_f (H : hauteur du front de l'éluant, h : hauteur de migration de la substance i ; $R_{f,i} = h/H$)

ET APRES... ?

La CCM permet : de suivre l'évolution d'une réaction, de contrôler la formation d'un produit par comparaison avec des témoins, de vérifier la pureté d'un produit (nombre de tâches sur une même verticale).

ET TOUJOURS... NETTOYAGE ET RANGEMENT DU MATERIEL