**LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE**

**La CCM :**

La chromatographie sur couche mince ou chromatographie planaire est une technique de [chromatographie](http://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie) couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparative).

Elle comprend :

* une [phase stationnaire](http://fr.wikipedia.org/wiki/Phase_stationnaire) : une couche mince de matériel adsorbant (usuellement du [gel de silice](http://fr.wikipedia.org/wiki/Gel_de_silice), de l'[oxyde d'aluminium](http://fr.wikipedia.org/wiki/Oxyde_d%27aluminium) ou de la [cellulose](http://fr.wikipedia.org/wiki/Cellulose))
* une [phase liquide](http://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie_en_phase_liquide), dite [phase mobile](http://fr.wikipedia.org/wiki/Phase_mobile) ou [éluant](http://fr.wikipedia.org/wiki/%C3%89luant) : un solvant ou un mélange de solvants qui va entraîner les composés à séparer le long de la phase stationnaire.

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d’adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d’une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d’aluminium. Après que l’échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

**Les principaux éléments d’une CCM sont :**

1. **une cuve chromatographique :** un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
2. **la phase stationnaire :** une couche d’environ 0,25 mm de gel de silice ou d’un autre adsorbant, fixée sur une plaque de verre, de plastique ou d’aluminium, à l’aide d’un liant comme le sulfate de calcium hydraté, l’amidon ou un polymère organique.
3. **l’échantillon :** environ un microlitre de solution diluée (de 2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l’éluant.
4. **l’éluant (phase mobile) :** un solvant pur ou un mélange.

On a vu que le choix dépendait de la polarité. Voici le classement des principaux solvants par caractère polaire croissant.

|  |  |
| --- | --- |
| * Ether de pétrole * Cyclohexane * Tétrachlorure de carbone * Benzène * Toluène * Dichlorométhane * Ether diéthylique * Chloroforme * Acétate d'éthyle * Pyridine * Acétone * Ethanol * Méthanol * Eau * Acide acétique | *Solvants  apolaires*  *Caractère polaire croissant*  *Solvants  polaires* |

**Principe de la technique :**

**-La préparation de l'échantillon** se fait par l'intermédiaire de solvants volatils qui peut être différent de l'éluant. Les solvants les plus utilisés sont le chloroforme, la propanone et le dichlorométhane.

-**Le dépôt de l'échantillon** se fait en un point de la plaque situé à environ 1cm de la partie inférieure à l'aide d'une micropipette ou d'un tube capillaire en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche adsorbant. Le dépôt ne doit pas dépasser 3mm de diamètre.

-**Préparation de la cuve** et **mise en place de la plaque**:

On verse l'éluant à environ 0,5 cm du fond de la cuve. La plaque est ensuite placée en position verticale dans la cuve et l'éluant qui en recouvre le fond monte par capillarité. On ferme la cuve de manière à former un environnement saturant de vapeur afin d'éviter l'évaporation de l'éluant lors de son ascension le long de la plaque.

**-La migration:** pendant la migration, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée. Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1cm de l'extrémité supérieure, la plaque est retirée de la cuve, le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'air libre ou à l'aide d'un séchoir.

**La révélation :**

Lorsque les composants de l’échantillon analysé sont colorés, leur séparation est facilement observable sur la plaque ; dans le cas contraire, on doit rendre les taches visibles par un procédé de révélation. Les taches seront ensuite entourées au crayon.

**1. Révélation UV :**

* Si la plaque est fluorescente, sous une lampe UV, toute la plaque apparaît verte sauf là où sont les taches que l'on entoure au crayon.
* Les dérivés aromatiques absorbent dans l'UV. Placer la plaque sous une lampe UV et entourer les taches colorées.

**2. Révélation à l'iode :** Beaucoup de composés organiques forment des taches jaune-marron en présence d'iode.

**3. Révélation par atomisation :** Cette technique utilise un atomiseur contenant le révélateur en solution. Selon le produit à révéler, la solution peut-être :

* Ninhydrine pour les acides aminés (taches violettes qui brunissent pour disparaître en quelques jours)
* Acide sulfurique à 50% pour à peu près tout (taches noires).
* On utilise aussi des mélanges complexes d'oxyde de molybdène en présence de sulfate de cérium.

**Rapport frontal :**

On appelle rapport frontal, RF (ou référence front), le rapport suivant :

|  |
| --- |
| **Distance parcourue par le soluté / Distance parcourue par le solvant** |

Le rapport frontal est donc égal à :

http://www.123bio.net/cours/chromato/images/rf2.jpg

Un soluté très soluble dans la phase fixe aura un RF faible ; très soluble dans la phase mobile, son RF sera élevé et proche de 1.

