

## Chromatographie planaire

Les méthodes de chromatographie planaire comprennent : La Chromatographie sur Couche Mince : CCM, la Chromatographie sur Papier CP et l'électrochromatographie planaire.

### I). Chromatographie sur couches minces « CCM

#### I.1 Définition

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique de chromatographie liquide qui 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.

#### I.2) Constituants d'une CCM

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont (figure1) 1) :

##### I.2.1) Cuve chromatographique

Un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche (figure2).

##### I.2.2) Echantillon

Environ un microlitre ( $\mu\text{l}$ ), mis en solution (2 à 5 %) dans un solvant volatile, qui n'est pas forcément le même que l'éluant : est déposée sur la plaque, à environ 1 cm de la partie inférieure.

##### I.2.3) Phase mobile (Eluant)

C'est un solvant (ou un mélange de solvants), qui progresse le long d'une phase dite « stationnaire », fixée sur un support, en entraînant les composants de l'échantillon.

##### I.2.4) Phase stationnaire

Une couche d'environ (0,25 mm)  $\frac{1}{4}$  de mm de gel de silice (un adsorbant parmi d'autres) qui est fixée sur une plaque de verre.

#### I.3) Principe

Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption.

#### I.4) Adsorbants et plaques chromatographiques.

Par ordre d'importance décroissante, les adsorbants employés en CCM sont : le gel de silice, l'alumine, le kieselguhr et la cellulose.

Les séparations sont basées sur le principe de polarité c'est à dire l'existence de dipôles. Le gel de silice et l'alumine sont les adsorbants les plus utilisés.

### 1.5) Phase mobile :

Le pouvoir éluant d'un liquide dépend de sa propre polarité. Les liquides classés ci-dessous le sont par polarité croissante.

### 1.6) Réalisation d'une CCM

**1) Choix de l'éluant :** L'éluant est formé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants. Un éluant qui entraîne tous les composants de l'échantillon est trop polaire ;

Choix de l'éluant dans le cas d'analyses :

- Hydrocarbures : hexane, éther de pétrole ou benzène.
- Groupements fonctionnels courants : hexane ou éther de pétrole mélangés en proportions variables avec du benzène ou de l'éther diéthylique forment un éluant de polarité moyenne.
- Composés polaires : éthanoate d'éthyle, propanone ou méthanol.

### 2) Choix de support

Il en existe trois principaux : silice, alumine et cellulose. Les supports sont généralement montés sur une plaque d'aluminium.

Silice : c'est le support le plus courant. Il est conseillé de toujours commencer par celui-là.

Alumine : on l'utilise généralement pour les composés à caractère basique.

Cellulose : on l'utilise pour les composés fortement polaires, comme les sucres ou les acides aminés.

### 3) Préparation de la cuve

Une cuve de chromatographie se compose de la cuve en verre et d'un couvercle. On remplit la cuve avec l'éluant de sorte à avoir un demi-centimètre de hauteur de liquide

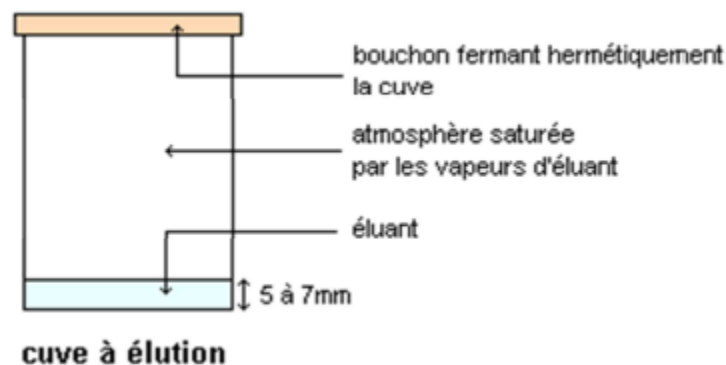


Figure 2 : cuve à élution

### 4) Préparation de la plaque

#### 5) Dépôt de l'échantillon

La solution est déposée en un point de la plaque située à environ 1 cm de la partie inférieure. L'échantillon est déposé à l'aide d'une micropipette ou d'un tube capillaire en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant en prenant soin de ne pas le détériorer figure 3 .

#### 6) Développement de la plaque (migration)

Le développement consiste à faire migrer l'éluant (phase mobile) sur la plaque (phase stationnaire). La plaque est placée en position verticale dans une cuve et, par capillarité, l'éluant monte dans la phase stationnaire entraînant avec lui le mélange à analyser jusqu'à ce que le front de solvant arrive à environ 1 cm du haut de la plaque.

#### 7) 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 sont ensuite cerclées au crayon. Les méthodes usuelles de révélation sont les suivantes : radiations UV, fluorescence, iode, atomisation.

### 8) Calcul de rapport frontal (retarding factor)

C'est le rapport entre la distance parcourue par le composant et la distance parcourue par l'éluant en fin d'expérience

$$Rf = h/H$$

h: distance parcourue par le composé (mesure au centre de la tache)

H: distance parcourue par le front du solvant

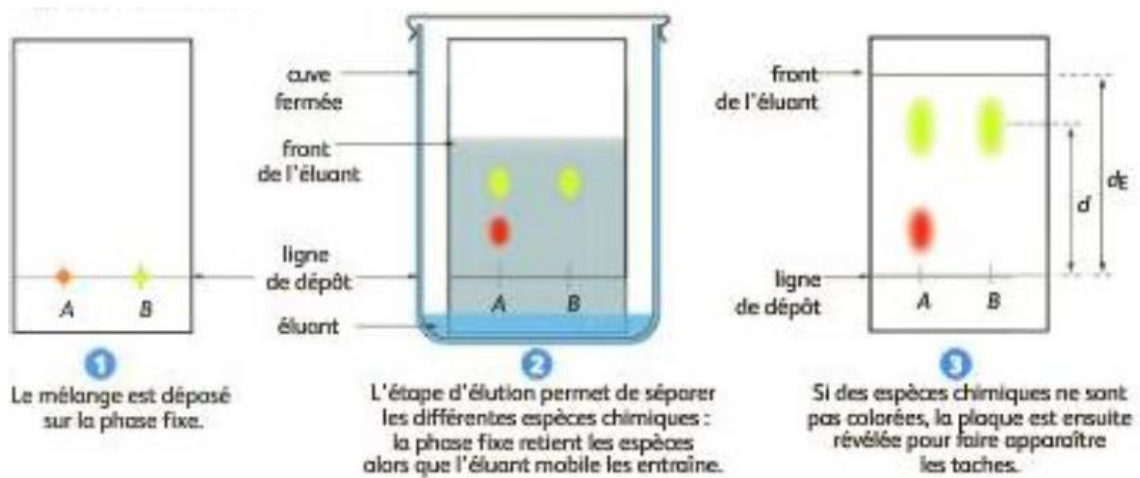


Figure 3 : Etapes de CCM