

GENERALITÉS SUR LES CHROMATOGRAPHIES

Les techniques chromatographiques sont très largement utilisées dans les laboratoires car elles permettent une SÉPARATION et une IDENTIFICATION d'espèces chimiques contenues dans une substance à analyser.

PRINCIPE D'1 CHROMATOGRAPHIE

comprendre comment la SÉPARATION d'espèces chimiques est possible ?

la séparation est possible grâce à une différence d'affinité des espèces chimiques à l'égard de 2 phases :

1 phase FIXE

support sur lequel peuvent cheminer les esp. X_q

1 phase MOBILE

phase qui entraîne les esp. X_q par migration.

CAS PARTICULIER DE LA C.C.M. : chromatographie sur couche mince

C'est un cas de chromatographie d'adsorption pour lequel :

- la phase FIXE est un solide (SILICE) déposé en très fine couche sur une plaque de plastique, aluminium ou verre.
- la phase MOBILE est un liquide appelé ELUANT : c'est 1 solvant ou 1 mélange de solvants.

IDENTIFICATION des espèces chimiques

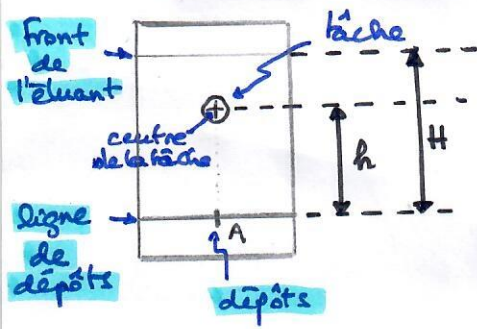
l'identification se fait lors de l'interprétation du chromatogramme (voir partie correspondante sur la fiche).
par rapport à des espèces chimiques dites de référence

Manuel NATHAN

- § 2.1. pp 35, 36
- Essentiel p 37 § CC7

FI4 - EXERCICES : LA CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

ASPECT D'UN CHROMATOGRAMME DE C.C.P. : vocabulaire et calculs



• détermination du RAPPORT FRONTAL d'une tâche, R_f :

$$R_f = \frac{h}{H} \leq 1$$

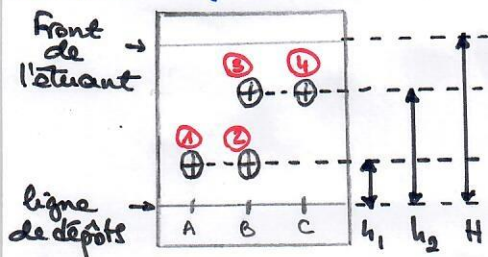
cm cm

c'est une valeur caractéristique d'une esp. X_q pour des conditions opératoires données :

- type de plaque
- composition de l'éluant.

INTERPRÉTATION D'UN CHROMATOGRAMME DE C.C.P.

Etape 1 : légendier



• Conditions opératoires :

- plaque Si/UV sur aluminium
- éluant cyclohexane / éthanol
30 / 70

• Dépôts

- dépôt A : référence A
- dépôt B : substance à analyser
- dépôt C : référence C

Etape 2 : Calculer

on calcule les rapports frontaux de toutes les tâches (ici 1 à 4)

$$* R_{f1} = \frac{h_1}{H} = R_{f2}$$

$$* R_{f3} = R_{f4} = \frac{h_2}{H}$$

R_f : exprimer les résultats avec 2 cs. uniquement.

Δ valable : si toutes les tâches sont visibles à l'œil nu ou grâce à la révélation.

Etape 3 : Interpréter et conclure

on peut déduire 2 informations de l'interprétation d'un CCM :

① PURETÉ DES SUBSTANCES DÉPOSÉES

liée au nombre de tâches par dépôts

• si 1 dépôt conduit à 1 tâche la substance déposée est pure
exci : les dépôts A et C ont conduit à 1 seule tâche donc les références A et C sont pures.

• si 1 dépôt conduit à plusieurs tâches alors la substance déposée est un mélange impure.

exci : le dépôt B a conduit à 2 tâches, la substance à analyser est un mélange.

② IDENTIFICATION DES ESPÈCES CHIMIQUES CONTENUES DANS LA SUBSTANCE À ANALYSER

se fait par comparaison des R_f de la substance à analyser par rapport aux R_f de substance dites de référence.

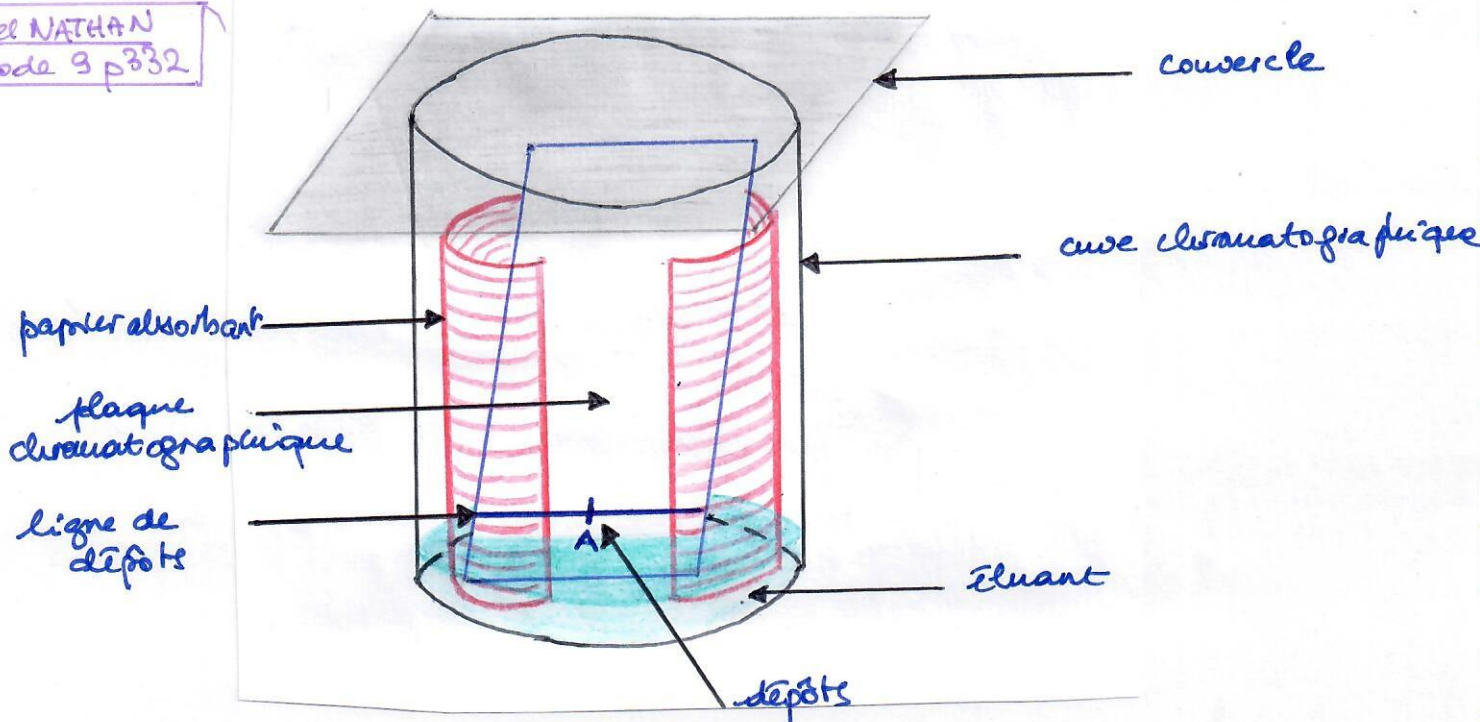
• 2 espèces chimiques identiques donnent des tâches qui ont même R_f .

exci : pour le dépôt B (substance à analyser).

* $R_{f2} = R_{f1}$ donc la substance à analyser contient de l'esp. X_q A.

* $R_{f3} = R_{f4}$ donc la substance à analyser contient de l'esp. X_q B.

Nathaniel NATHAN
Méthode 3 p 332



LES 6 ETAPES DU PROTOCOLE

- | | | |
|---|---|---|
| <p>① Préparation de la cuve</p> <ul style="list-style-type: none"> • verser $\approx 0,5$ cm d'éluant • placer un papier absorbant dans la cuve • fermer le couvercle <p>⇒ étape de SATURATION de la cuve en vapeur d'éluant.</p> <p>⚠ toxicité des solvants utilisés pour l'éluant</p> | <p>② Préparation de la plaque</p> <ul style="list-style-type: none"> • tracer la ligne de dépôt à ≈ 1 cm du bas de la plaque • indiquer les positions des dépôts par des petits traits verticaux <p>⚠ ne pas toucher la plaque avec les doigts</p> <p>⚠ le niveau de l'éluant doit être <u>Sous</u> la ligne de dépôts</p> <p>⚠ utiliser un crayon de papier et ne pas appuyer</p> <p>⚠ dépôts 1 cm entre et 1/3 large plaque</p> | <p>③ Dépôts des substances et des références</p> <ul style="list-style-type: none"> • déposer délicatement à l'aide d'un capillaire les très substances. <p>⚠ ne pas gratter la plaque</p> <p>⚠ taille des dépôts max 3 mm</p> <p>⚠ placer les substances à analyser au centre, les références aux bords pour faciliter la lecture</p> |
| <p>④ Elution de la plaque</p> <ul style="list-style-type: none"> • introduire rapidement la plaque dans la cuve • refermer • éluer jusqu'à ≈ 1 cm du haut de la plaque <p>⚠ ne pas déplacer ou bouger la cuve lors de l'élution</p> | <p>⑤ Repérage du front de l'éluant et séchage de la plaque</p> <ul style="list-style-type: none"> • sortir la plaque de la cuve et indiquer au trait de crayon le front de l'éluant • sécher la plaque au sèche-thermo. <p>⚠ ne pas gratter la plaque</p> <p>⚠ toxicité vapeurs d'éluants</p> | <p>⑥ Révélation de la plaque</p> <ul style="list-style-type: none"> • choisir un mode de révélation (UV) • entourer toutes les tâches visibles après révélation (le faire en respectant ces couleurs) <p>⚠ aux UV</p> <p>⚠ bien respecter la forme des tâches.</p> |