

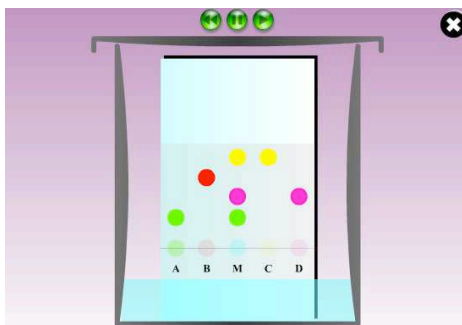
Chromatographie sur couche mince CCM

Généralités

- Principe de séparation identique à la chromatographie sur colonne
- PS déposée sur support en couche mince (anciennement papier)
- PS la + ut = silice ou cellulose, alamine, silices greffées
- PM (si silice) ut même solvant que la chromatographie d'adsorption
- **Mécanisme :**
 - méca (sur silice) s'rtt adsorption (fixation sur site actif)
 - mais aussi partage car ∃ tjrs de l'eau ds solvant
- **Règle de rétention** cf. chromatographie sur colonne sur silice
- **Applications :**
 - surtt analyse qualitative :
 - ds pharmacopée européenne très ut pour identifier ou rech impureté
 - la caractérisation se fait en déposant à côté 1 étalon
 - moins ut en analyse quantitative, mais possible
 - mesure densité des spots → chromatogramme

1 Mode opératoire

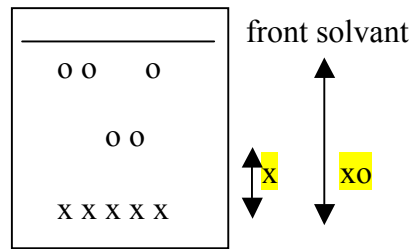
- Plaque sur laquelle on dépose une fine couche de silice de 100 à 200 µm d'épaisseur → PS
 - Support = métal (permet la découpe), ou verre ou plastique*
 - Cette PS adhère sur support grâce à l'addition d'un liant organique ou minéral
 - **1/ Dépôt de l'échantillon :**
 - à ~1 cm du bord inférieur /µseringue/capillaire,
 - sous forme d'un spot circulaire ou en bandes (analyse quanti)
 - **2/ immersion** ds qlq mm ds cuve (= couvercle) contenant la PM
 - !! la cuve est qlq fois saturée en solvant (résultats ≠ts)
 - **3/ migration** PM /capillarité :
 - entraîne composés en fct° affinité à vitesse ≠tes
 - **4/ Révélation :**
 - qd migration atteint 12 à 15 cm, on retire plaque, marque front solvant,
 - séchage,
 - Révélation des spots :
 - à l'œil nu si spots colorés
 - ss lampe UV si fluorescents
 - pulvérisation de réactifs généraux ou spécifiques pour rendre composés colorés ou fluorescent
 - le + courant : plaques + indicateurs de fluorescence
- (F254) ss/ UV → composé qui absorbent λ excitatrice : spots sombres sur fond de plaque fluorescent



2 Paramètre de séparation

- Tout composé est défini / son **Rf**

$$Rf = \frac{d \text{ substance}}{d \text{ solvant}} = \frac{x}{x_0}$$



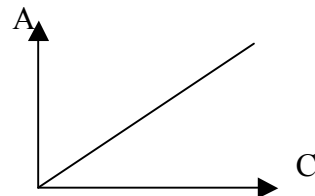
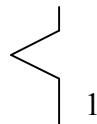
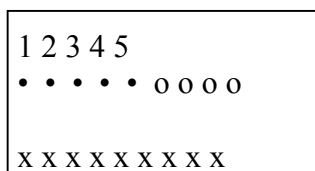
- Rf varie avec :
 - T° ,
 - état de saturation de la cuve ,
 - teneur en eau de la silice...
- Tjrs identification / **étalon** déposé sur même plaque

3 Particularité en CCM

- syst à **3 phases** (vapeur + ϕ_m + ϕ_s)
- comme en CLHP , la migration sur silice se fait par méca d'adsorption /désorption
- ici le support n'est pas totalement équilibré avec la ϕ_m
- vitesse de progression **non cste**
- Rf des composés à l'état pur \neq de celui ds mélange
- la rech d'impureté se fait avec solution très conc de prod à analyser _ Rf modifié

4 Applications

- **Méthode d'analyse qualitative +++**
 - identification des composés par rapport à un étalon déposé sur la même plaque
 - mais peu spé
 - mise en ev de prod de dégradation ,d'impureté de synthèse.
- **Analyse quantitative :**
 - *mesure semi quantitative :*
 - appréciation des dimensions ou intensité des spots par rapport à une gamme étalon déposée sur la même plaque
 - grattage des spots ,dissolution ,filtration et dosage/spectrophotométrie
 - *mesure quantitative précise :*
 - avec photo densitomètre ou **spectrophotomètre chromato** :
 - principe :on balaye la plaque à la surf (faire avancer ss/ lumière monochromatique 100% réfléchiesur spot réflexion partielle (si adsorption) →analyse lumière réfléchie



- gamme d'étalonnage sur même plaque :aire=f(conc)
- échantillon :aire

➤ **Application particulière de la CCM :**

- CCMHP=nanochromatographie :
 - granulométrie φ 3 à 5 μ m :meilleur résolution
 - migration sur 3 à 5 cm (rapide)
 - qtité faible de substance (0.01 à 0.1 μ g / 0.1 à 0.5 Ml)

- CCM préparative →but :recup substance pur :
 - couche de φ s + épaisse (admet + de qtité)
 - dépôt de pls mg de substance ; ssf de bandes en général
 - migration
 - récupération de substance pure par grattage des bandes ,dissolution analyte et filtration