

TP 4 : Analyse des pigments par chromatographie sur couche mince (CCM)

I. Principe

La chromatographie sur couche mince permet une séparation des pigments dans un but d'analyse. La phase fixe (appelée **phase stationnaire**) est composée d'une couche solide sur laquelle est déposé un gel de silice servant de support et la phase liquide (appelé **phase mobile**) est constituée d'un éluant qui sépare les différents pigments. Plusieurs gouttes de solution de chlorophylle sont déposées sur la phase fixe à l'aide d'un capillaire pour former une tâche. La plaque de silice est mise en contact avec la phase liquide qui va migrer et entraîner les pigments de la chlorophylle par capillarité. Une fois que la migration est terminée, on obtient plusieurs tâches colorées sur la plaque de silice correspondantes aux différents composants de la chlorophylle. On décrit la plaque chromatographique en énumérant **les Rf** de chaque tache ou spot, obtenus en calculant le rapport du déplacement d'un pigment sur la distance parcourue par le front du solvant.

II. Protocole expérimental :

1. Couper finement **15 g** de feuilles dans **un mortier** contenant une **pincée de sable**. Broyer soigneusement au pilon jusqu'à ce que l'ensemble forme une pâte. Ajouter ensuite environ **40ml d'acétone à 95°** et continuer à broyer fortement quelques minutes, jusqu'à ce que la solution soit vert foncé. Filtrer le mélange.
2. sécher l'extrait à l'étuve.
3. Découper une bande de plaque de silice d'environ 10 cm de large.
4. Tirer un trait transversal avec un crayon à 2 cm du bord de la bande.
5. Déposer une tache de 50 µl (le déposer en plusieurs prises pour obtenir un dépôt intensément coloré) d'extrait au centre du trait avec une micropipette.
6. Laisser sécher le dépôt.
7. Placer la bande dans la cuve de façon à ce que le bord de la bande soit plonge dans le **solvant (85% d'éther de pétrole, 10% d'acétone, et 5% de cyclohexane)** à 1 cm au-dessous du dépôt.
8. Laisser le chromatogramme se développer pendant **40 à 45 minutes**.
9. Calculer le **Rapport frontal (Rf)**:
 $Rf = \text{distance parcourue par le pigment} / \text{distance parcourue par le solvant}$
10. Identifier chaque pigment en utilisant les indications fournies.
11. Schématiser le chromatogramme sur votre feuille de TP.