

CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER OU EN COUCHE MINCE (CCM). Application à la mycologie.

Marcel Lecomte

La chromatographie sur couche mince (CCM) est basée essentiellement sur des phénomènes d'adsorption et sur le principe de la capillarité. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve chromatographique, l'éluant monte à travers la phase stationnaire (PhS). Mais, en fonction de sa densité, de sa solubilité dans la phase mobile et des forces électrostatiques retenant le composant sur la PhS, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse dans l'absorbant.

Le contenant sera une cuve chromatographique, à savoir un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.

On va devoir gérer 3 éléments bien définis :

1. **La phase mobile (PhM)**, également appelée **éluant** : 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.

Selon le type d'analyse à réaliser, le choix de l'éluant sera variable :

- pour les hydrocarbures : hexane, éther de pétrole ou benzène.
- pour des groupements fonctionnels courants : hexane ou éther de pétrole, mélangés en proportions variables avec du benzène ou de l'éther diéthylique.
- Pour des composés polaires : éthanoate d'éthyle, propanone ou méthanol.

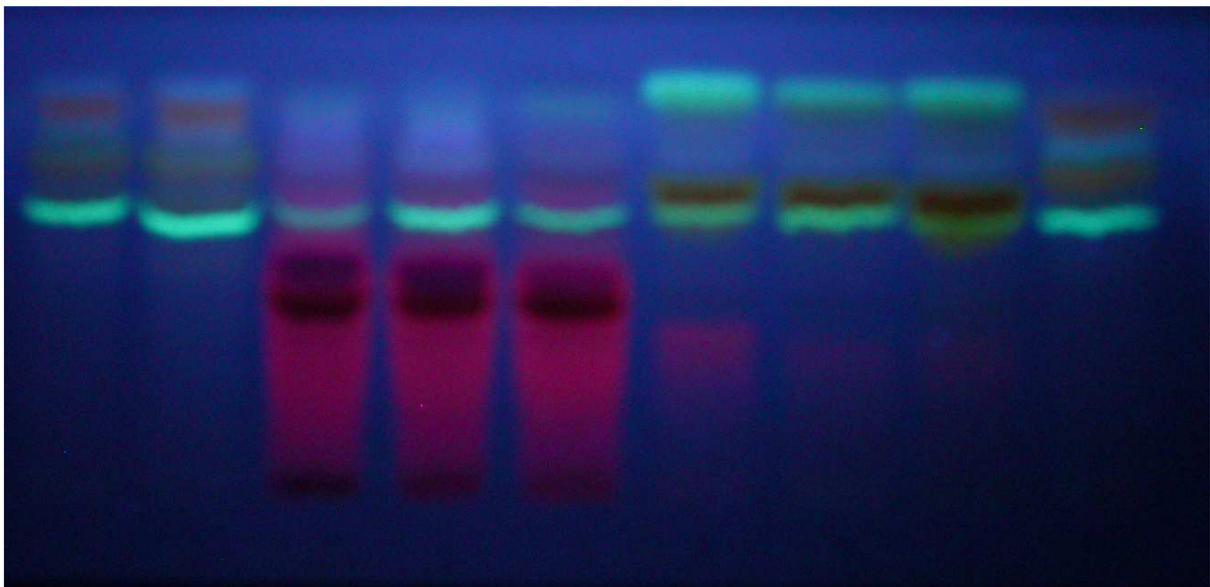
2. **La phase stationnaire (PhS)** : c'est une couche d'environ 1/4 de mm de gel de silice (un adsorbant parmi d'autres) qui est fixée sur une plaque de verre (ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium, voire même sur une feuille de papier), à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre), l'amidon ou un polymère organique. Après le dépôt de l'échantillon sur la PhS, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

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

3. **L'échantillon** : il est mis en solution (2 à 5 %) dans un solvant volatil, qui n'est pas forcément le même que l'éluant : les plus utilisés sont le trichlorométhane (chloroforme), la propanone ou le dichlorométhane. La solution (1 cm³ max.) est déposée sur la plaque, à environ 1 cm de la partie inférieure

Explications fournies par Alain GERAULT, suite à des questions posées par Marcel LECOMTE ; avec également les conseils judicieux de Georges FANNECHERE.

Image « point de départ » qui a lancé le débat !



(ML) : *Bonjour Alain,*

Cette technique séduisante est-elle à la portée d'un mycologue "moyen" : matériel à utiliser, investissement de base, coût des produits, dangerosité ?

Pourrais-tu faire suivre une fiche technique qui explique cela dans le détail ?

(AG) : c'est accessible à un mycologue moyen en ce qui concerne la différence entre espèces et ceci avec des moyens réduits. A titre documentaire, voici une plaque de dermatocystes de Nouvelle-Zélande (image ci-dessus) qui étaient assez semblables du point de vue micro et macro. On constate (sans qu'il soit nécessaire d'identifier formellement les pigments anthraquinoniques en cause...) qu'en partant de la gauche :

1 et 2 appartiennent à la même espèce.

3, 4, 5 idem

6, 7, 8 idem

9 est une espèce différente mais affine à 1 et 2, à mettre en balance avec d'autres caractères.

Présenté comme cela, c'est simple, non ?

(ML) : *Mais qu'en est-il au niveau du matériel nécessaire ?*

Cela relève-t-il d'un laboratoire spécialisé, inaccessible à des non-professionnels ?

(AG) : Mais non, c'est simple, j'ai rassemblé mon matériel sur ces photos.

Photo 1 :



Photo 2 :

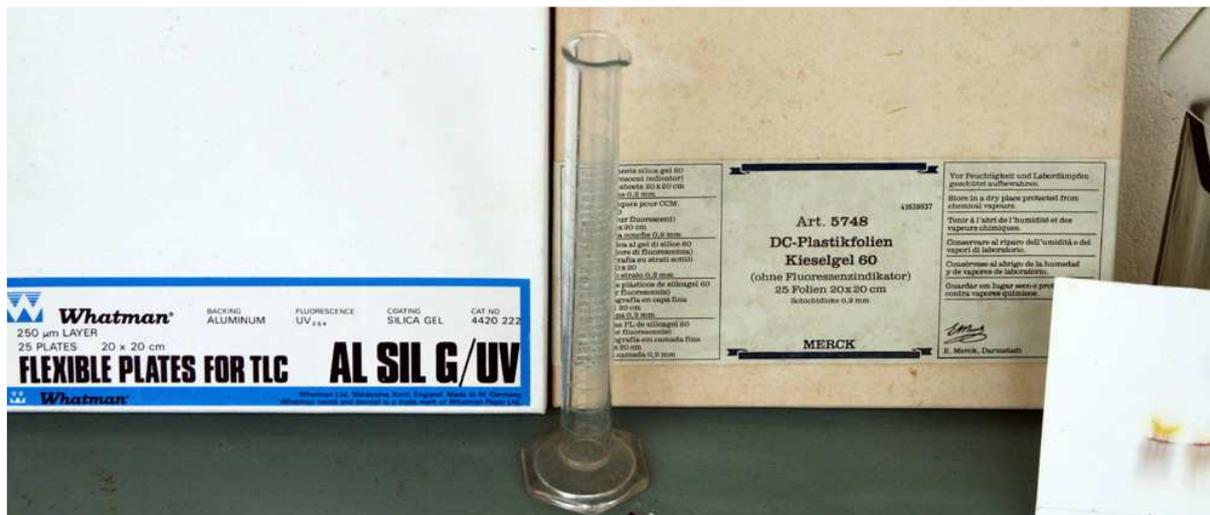


Photo 3 :



Voici ce qui est nécessaire :

- Une cuve à chromatographie en verre avec couvercle si on veut réaliser des chromatographies "universelles" car le verre n'est pas attaqué par les solvants de migration qu'on dépose au fond. Ceci dit, si on veut faire uniquement des chromatographies de pigments anthraquinoniques, une cuve en matière plastique transparente suffit, car on peut utiliser des solvants non corrosifs (je ne cite pas la marque bien connue des ménagères).
- Des pipettes Pasteur en verre pour faire les dépôts (non stériles, cela ne sert à rien).
- Une éprouvette graduée pour préparer le mélange du solvant de migration.
- Des solvants (à définir selon ce qu'on veut mettre en évidence).
- Des plaques de chromatographie 20 x 20 cm, pas en verre mais en plastique ou en aluminium, qu'on peut couper, ce qui permet de doubler le nombre d'analyses. C'est un peu cher, mais on peut faire 24 analyses au moins avec une plaque coupée en deux, ... et comme il y a 25 plaques dans une boîte...
- Une lampe UV (pas sur la photo), qui coûte environ 30 euros chez Conrad (mercure à haute pression, 220 volts, à installer dans une boîte qu'on fabrique soi-même).

(ML) : *Comment pratiques-tu pour extraire les pigments ?*

(AG) : Pour l'extraction, il faut utiliser un mortier pour broyer l'échantillon (avec un peu de sable). On transvase ensuite la poudre obtenue dans un petit tube en verre avec bouchon (dit tube à hémolyse). On ajoute du solvant (alcool) ; on agite fortement et on laisse décanter. C'est le surnageant coloré qui contient les pigments à analyser qu'on déposera sur la plaque et qu'on fera migrer.

Ensuite on séchera la plaque (emprunter le sèche-cheveux de son épouse...) et on examinera les taches en lumière visible et aux UV. Sur la photo 3, on voit des extraits de dermocybes dans les tubes, avec le surnageant clair. Le mode opératoire (déposé !) va suivre...

Il y a un tour de main à connaître : essaie de trouver quelqu'un qui puisse te faire une démonstration (il suffit de l'avoir vu faire une fois)...

(ML) : *Je suis plongé dans le catalogue de Merck-WVR Belgique et je suis perdu dans la masse des possibilités ! Je vois "plaques CCM, gel de silice 60 A, feuilles de plastique" : est-ce cela ?*

Une chambre d'observation avec lampe UV coûte plus de 1.000 €.. Je suis un peu effaré par les prix.

(GF) : Bravo Alain pour la mise en œuvre de cette technique relativement récente....

- Il y a des plaques en petits conditionnements sur

http://www.sordalab.com/catalogue/produit.php?numprod=2110&request_temp=chromatographie

→ 50 plaques de silice sur polyester 40x80mm, réf 40079, pour moins de 45,00 €

- Voir aussi chez Pierron les kits pour les écoles

<http://www.pierron.fr/> → utiliser le moteur de recherche du site.

12 cuves cylindriques en polystyrène cristal, d'une parfaite transparence de 45 mm de diamètre et 120 mm de hauteur + 12 couvercles + 25 feuilles de papier chromatographique de 130 x 260 mm + un lot

de colorants alimentaires + le nécessaire à la réalisation de 1 l de phase mobile → **livré avec notice, pour moins de 30,00 €**

- Explications complémentaires (ça ne peut pas nuire !)

<http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/physique/CHIM/Jumber/CCM/CCMCADR.htm>

- Quelle bande de fréquence la lampe à UV ?

Une lampe UV lambda ne coûte pas cher ! Mais il ne faut pas l'acheter chez les fournisseurs de labos (voir Conrad, Selectronic, et d'autres ... selon les fréquences)

(AG) : Merck est le fournisseur le plus cher en matériel et en réactifs, il est possible de trouver beaucoup moins cher chez d'autres fournisseurs...

Ceci dit, pour ce qui nous concerne, il n'est pas absolument nécessaire d'utiliser la chromatographie en couche mince. Pour les pigments des champignons, la chromatographie sur papier suffit (elle est certes moins sensible et moins résolutive mais en général on a assez d'échantillons...). Me contacter pour les solvants.

Dans ce cas, on remplace les plaques de silice par du papier pour aquarelle (bien blanc et épais !). Ce n'est pas très cher et on peut tailler les feuilles à sa convenance. Pas besoin d'une cuve spéciale, un grand bocal fermant avec un bouchon à vis est suffisant ! Il suffit de faire des dépôts plus importants et de laisser migrer plus longtemps, c'est même plus facile à conserver ensuite après séchage.

Pour ce qui concerne la lampe UV, inutile d'acheter une lampe coûteuse ; une simple lampe à mercure haute-pression suffit ; voici la moins chère qui est parfaite car puissante :

voir www.conrad.fr Lampe vapeur mercure, lampe lumière noire, 160 W /E-27 pour 24,90 euros.

Il suffit de la placer dans un caisson avec une ouverture latérale (ou le séchoir à champignons comme je l'ai fait !) Cela convient pour les chromatogrammes, mais aussi pour les champignons frais, les lichens (indispensable pour les déterminations), les timbres-poste, les billets de banque, etc.

(ML) : *Est-il nécessaire d'acheter des plaques CCM munies d'un indicateur de fluorescence ?*

(AG) : La présence d'un indicateur de fluorescence dans les plaques nécessite pour la lecture une lampe spéciale à 266 nm ; elle permet alors de faire fluorescer le fond de la plaque, et les substances non fluorescentes qu'on a fait migrer apparaissent alors en sombre sur le fond jaune fluo de la plaque. C'est totalement inutile dans notre cas puisque justement les pigments anthraquinoniques sont fluorescents !

GENERALITES TECHNIQUES.

Voir les sites suivants en français :

<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/chromato/A2.html>

<http://www.chez.com/dalmeysa/cours/ccm/>

APPLICATION AUX CHAMPIGNONS.

Présentation par Alain GERAULT d'une technique qu'il a mise au point, 27/08/2008.

Une très bonne étude générale figure dans le travail de R. Kühner : « *Les grandes lignes de la classification des Agaricales, Plutéales, Tricholomatales* ». Ce travail a été publié par fascicules dans le Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon en 1978. (Pour ce qui concerne les dermocybes : 47ème année, n°8, octobre 1978.)

N.B. : cette étude figure dans « *Hyménomycètes agaricoïdes* », de Robert Kühner, 1980, 1027 pages, n°spécial du Bulletin de la Société Linnéenne de Lyon, p. 202 et 249.

Remarque : la technique que je développe s'applique aux dermocybes. Elle permet de réaliser des chromatogrammes et de les comparer, ce qui permet de voir si une « espèce » est semblable ou non à une autre. Il est également possible d'utiliser des racines d'arbres mycorhizées par un dermocybe et de produire un chromatogramme des racines broyées. En le comparant à des chromatogrammes d'espèces connues, il est possible d'identifier l'espèce qui a mycorhizé l'arbre.

MATERIEL

Cuve à chromatographie avec son couvercle.

Tubes à essai (si possible fermant avec un bouchon à vis).

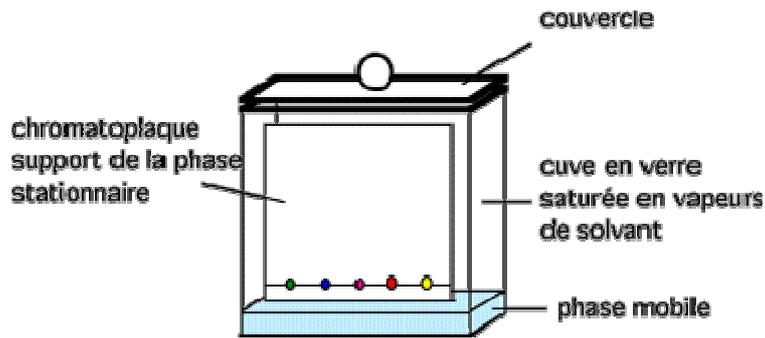
Pipettes Pasteur pour réaliser les dépôts.

Mortier et pilon, sable ou poudre de verre.

Papier pour chromatographie : peu coûteux et simple mais la séparation des pigments est moins nette qu'en chromatographie sur plaque.

Plaques pour chromatographie en couche mince (silicagel), qu'on peut découper en plaques de 10 x 10 cm.

Sèche cheveux.
Une lampe U.V.
Méthanol pur et réactifs chimiques.



Dessin de René Laffont (B.Media) – les points colorés sont les dépôts d'échantillons

TECHNIQUE

➤ Extraction des pigments :

Prendre un peu de champignon (quelques grammes), frais ou sec (dans ce cas moins), le broyer dans un mortier avec un peu de sable ou de poudre de verre (c'est plus facile !) après l'avoir humecté de méthanol (pas trop) jusqu'à disparition des fragments visibles à l'œil nu.

Transvaser la poudre obtenue dans un tube à essai (si possible muni d'un bouchon vissé).

Ajouter du méthanol (au double de la hauteur de la poudre environ).

Agiter le contenu.

Laisser décanter et se servir du surnageant pour faire les dépôts sur le papier ou sur la plaque.

➤ Préparation du solvant de migration :

Avec des plaques de silicagel, nous utilisons un solvant polaire « universel » constitué de la manière suivante :

Chloroforme/n. butanol/éthanol/acide acétique/eau (5:55:10:15:15)

Donc pour en préparer 100 ml, il faut mélanger :

Chloroforme (5 cc) - N butanol (55 cc) - Ethanol (10 cc) - Acide acétique (15 cc) – Eau (15 cc)

Un autre solvant peut être utilisé : **n. butanol/acide acétique/eau (80:10:10)**

N.B. Il en existe encore beaucoup d'autres (attention, les solvants peuvent être différents selon qu'on utilise le papier ou la plaque de silicagel comme support de migration).

Cas particulier de la chromatographie des caroténoïdes : ils ne sont pas solubles dans l'eau ; il faudra donc pour les extraire et les chromatographier, utiliser des solvants apolaires. On peut extraire à l'acétone, à l'acétate d'éthyle, au mélange acétone/éther de pétrole (5:45).

Les solvants de chromatographie peuvent être, pour les caroténoïdes :

Cyclohexane/acétate d'éthyle (75:25)

Cyclohexane/éther de pétrole/acétone (5:85:10)

➤ Dépôts, développement, chromatogrammes :

Dépôts :

On trace au crayon une ligne située à environ 1,5 cm de la base de la plaque et on inscrit les numéros des échantillons (on peut faire 5 dépôts, donc 5 chromatogrammes sur les 10 cm de la largeur d'une plaque).

Les dépôts se font avec une pipette Pasteur ; il faut déposer en plusieurs fois (sécher au sèche-cheveux entre chaque dépôt) jusqu'à avoir une tache bien colorée au niveau du dépôt.

Développement :

Après avoir séché tous les dépôts, développer dans le solvant choisi jusqu'à environ 1/2 cm du haut de la plaque, soit sur environ 7,5 cm avec une plaque de 10 x 10 cm.

Le développement consiste à faire migrer l'éluant sur la plaque. Dans les analyses habituelles de laboratoire, le principal type de développement est la chromatographie ascendante : la plaque est placée en position verticale dans une cuve et l'éluant qui en recouvre le fond monte par capillarité.

Le niveau de liquide est ajusté à environ 0,75 à 1 cm du fond de la cuve puis on introduit la plaque. Pendant le développement, la cuve doit demeurer fermée et ne pas être déplacée.

Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm 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.

Chromatogrammes :

Photographier (ou scanner) la plaque en lumière naturelle car les pigments apparaissent colorés naturellement (c'est leur avantage !). Mais l'exposition au rayonnement ultraviolet donne des résultats encore plus spectaculaires.

(ML) : *Justement, parle-moi de ce plus que constituent les rayons UV !*

(AG) : La fluorescence est immédiate et cesse quand on coupe la lampe UV ! (regarder dans le noir en ne regardant que la plaque et pas la lampe...). Il y a toute une gamme de couleurs et en particulier des bleus qui ne correspondent pas à une tache de couleur en lumière visible (substance fluorescente incolore : par exemple l'orellanine). Sur une plaque, on peut observer la fluorescence tant que les taches colorées en lumière visible sont nettes (plusieurs jours en général). On doit toujours observer le chromatogramme bien sec.

Les plaques doivent être conservées à l'obscurité car la lumière les décolore en quelques jours. Attention ! Les UV sont très actifs : une heure ou deux d'exposition suffisent pour détruire les substances fluorescentes.

Exposer aux UV dans une chambre noire (un carton percé suffit) et faire une photographie des spots fluorescents. Je réalise en général une photo de la plaque en lumière blanche, puis une autre sous les UV ; comme cela, pas de problèmes de conservation.

Par la suite, on aura tout son temps pour étudier les chromatogrammes en les comparant avec ceux de la collection qu'il est facile de se constituer.

Pour avoir une image nette en photo, faire la mise au point en visible (on peut utiliser une mire que l'on pose sur la plaque CCM) puis la mémoriser et faire ensuite la photo sous UV. Utiliser aussi un filtre UV sur l'objectif ; rechercher ensuite la sensibilité ISO qui ne donne pas trop de grain. Pour s'amuser, réaliser aussi des chromatogrammes de *Leproclybe* : il y a parfois des surprises (espèces qui en macroscopie semblent identiques et qui ne le sont pas en CCM...).

(ML) : *Est-il possible d'étendre cette technique à d'autres genres, comme les russules et les lactaires par exemple ?*

(AG) : Tout est possible, mais c'est plus complexe car il n'y a pas de pigments anthraquinoniques dans ces familles. On peut toutefois rechercher des acides aminés particuliers mais cela nécessite des techniques complexes et délicates (voir dangereuses) réservées aux chimistes.

J'ai oublié de te dire que les anthraquinones n'existent pas que chez les dermatocystes, contrairement à ce que l'on entend souvent dire, mais on en a trouvées aussi chez des représentants des *Telamonia* et des *Phlegmacium* (G. Eyssartier). Et dans certains groupes de tricholomes, et également un peu partout dans le domaine végétal...

Chez les lichens c'est pratiquement la règle générale (cf. les réactions chimiques pratiquées dessus ! et la définition de races chimiques chez certaines espèces) et pour la majorité des lichens, ce sont des Ascomycètes.

(ML) : *Tu m'as parlé de « kétides » ! De quoi s'agit-il ?*

(AG) Un kétide est un groupe chimique comprenant une fonction méthylène et une fonction carbonyle adjacentes, ce groupe peut se polymériser (il porte alors le nom de motif) pour donner des polykétides. Ces polykétides sont des composés très importants en biochimie en particulier des champignons (ce sont des métabolites secondaires comme par exemple certains antibiotiques).

Les octakétides et les nonakétides sont donc des polykétides respectivement à 8 ou 9 motifs kétides : -CH₂-CO-

Ces octa- ou nona- kétides sont soit accrochés quelque part sur l'antraquinone soit polymérisés dans un endroit du squelette chimique de l'antraquinone ; il faudrait avoir plus de précision.

Voir l'article suivant sur les polykétides :

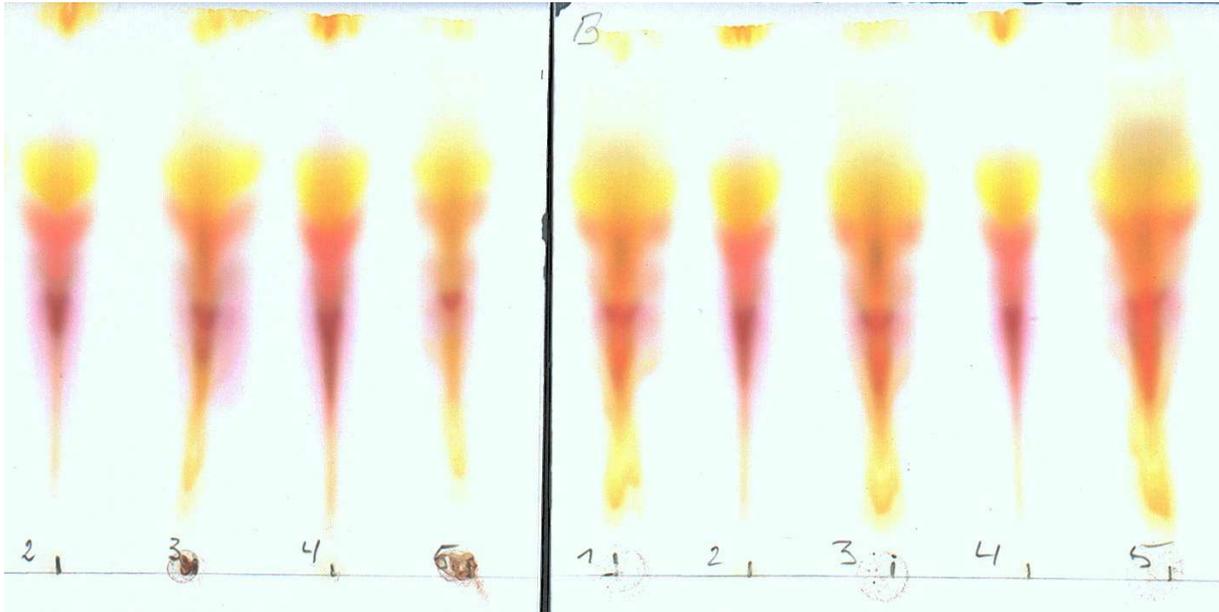
http://www.rasmusfrandsen.dk/ny_side_8.htm

Références bibliographiques

1. BEYERINCK M. W., 1889 - Z. Phys. Chem., 3, 110.
2. STAHL, 1969 - Thin Layer Chromatography, 2ed., Springer Verlag.
3. MACEK K. et al., 1968 - Bibliography of Paper Chromatography and Thin Layer Chromatography, 1961-65, supplementary volume, J. Chromatogr., Elsevier.
4. KALASZ H. et BATHORI M., 1997 - LCGC int, 10, 7, 440-445.

Expérimentations personnelles

Marcel Lecomte, 12/2009



Les références A2 – A4 – B2 – B4 concernent *Dermocybe sanguinea* (Wulf. : Fr.) S.F.Gray : on peut constater que le chromatogramme des 4 échantillons est rigoureusement identique.

Les autres références concernent *Dermocybe cinnamomea* (L. : Fr.) Fr.

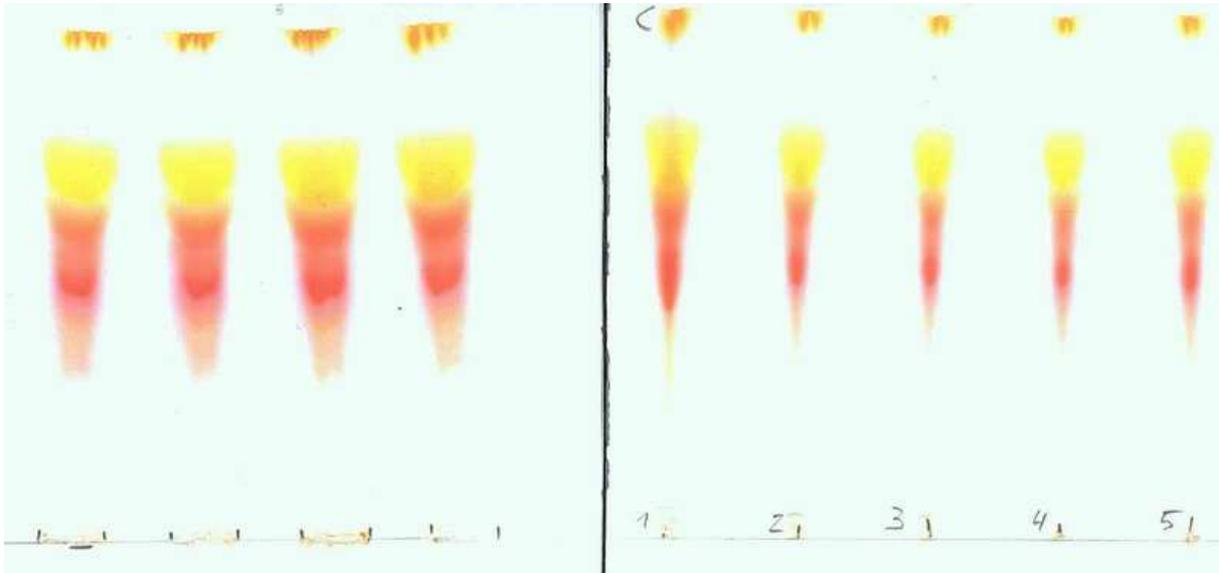
Voici une synthèse détaillée du mode opératoire que nous utilisons, après avoir sacrifié 40 plaques de silicagel en essais et erreurs, et posé nombre de questions à notre mentor.

- Nous avons réalisé des essais sur du papier bristol, à aquarelle et à dessin : les résultats sont nettement moins lisibles et interprétables, même sur des colorants alimentaires comme le bleu patenté (E131), l'azorubine (E122) et la tartrazine (E102), avec une solution saline comme éluant. Notre préférence va sans hésitation aucune aux plaques de silicagel sur support plastique.
- Une plaque de silicagel mesure 20 x 20 cm : la couper en 4 carrés de 10 x10 ; tracer une ligne légère au crayon à 1,5 cm du bas et y indiquer les zones de dépôt (1 cm de large et espacées de 0,5 cm) ; tracer une seconde ligne à 1 cm du dessus ; la zone de migration de l'éluant vaudra donc 7,5 cm.
- Nous utilisons cet éluant qui se révèle très actif pour mettre en évidence les anthraquinones des *Dermocybe* : chloroforme/n.butanol/éthanol/acide acétique/eau (5:55:10:15:15) ; en préparer 100 cc à la fois (voire 50 cc, car il ne se conserve pas longtemps). Travailler sous hotte ou dans une pièce très bien ventilée.
- Conserver l'éluant dans un flacon en verre, bien hermétique et opaque (nous l'opacifions en l'enrobant complètement de papier alu) : ainsi, il va se conserver durant 2 à 3 jours.
- Il est possible d'effectuer en série les dépôts des divers extraits avant de les révéler : ils se conservent au moins durant 24 heures.
- Utiliser une pipette Pasteur pour les dépôts.
- Dans la pratique, il faut apporter le plus grand soin au dépôt de l'échantillon : poser de très petites quantités ! La qualité du résultat dépendra directement du soin apporté à la manipulation.
- Sur une feuille de 10 cm, pour une même espèce, nous réalisons 6 empreintes colorées d'1 cm de long ; 2 empreintes avec 4 dépôts ; 2 empreintes avec 6 dépôts ; 2 empreintes avec 8 dépôts et séchage entre chaque couche. Cela permet d'évaluer quel est le nombre de dépôts qui paraît le plus explicite.
- S'il s'agit de réaliser une comparaison entre plusieurs espèces, les dépôts de chaque extrait spécifique DOIVENT ETRE REALISES sur la même plaque, dans les mêmes conditions.
- Déposer deux feuilles à la fois dans la cuve de révélation ; elles ne doivent pas se toucher ; y placer juste assez d'éluant pour un seul développement car il faudra le jeter ensuite (il faut

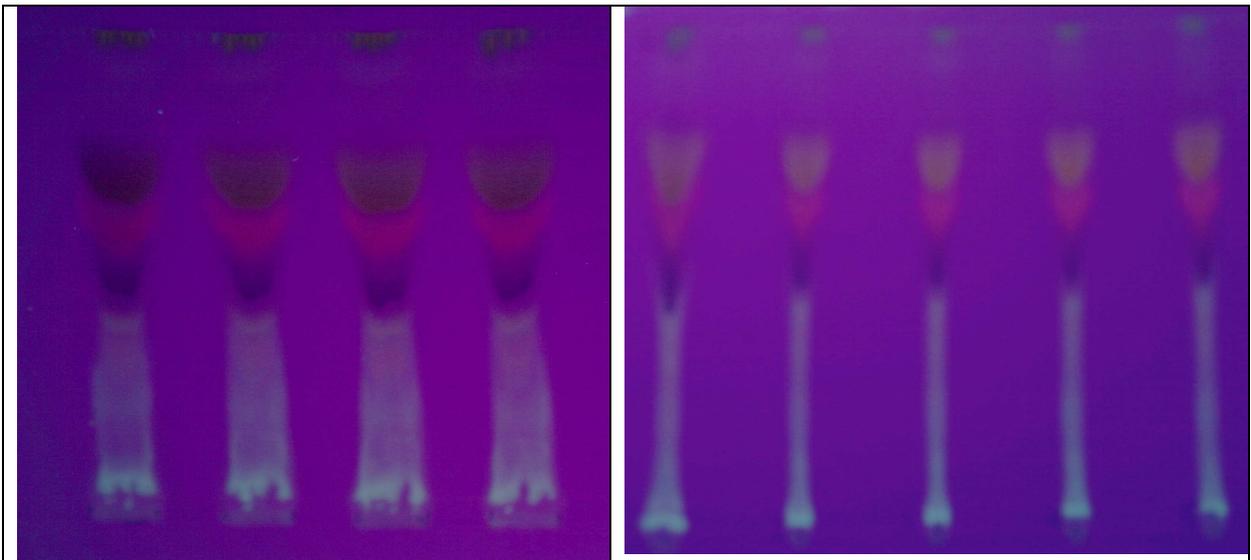
remplacer le solvant après chaque migration car l'acide et l'alcool réagissent sous l'influence de la lumière pour former un ester et les propriétés changent).

- Il faut +/- ½ heure pour que l'éluant progresse jusqu'à 1 cm du dessus de la feuille (sur 7,5 cm de haut).
- Nous séchons les plaques développées en les posant dans le bac supérieur d'un dessiccateur, à 40° C maximum, ou alors, séchage normal, à température de la pièce. Nous travaillons sous hotte afin d'éliminer les odeurs irritantes.
- Lorsque la plaque est révélée et séchée, on peut la conserver durant plusieurs jours à l'abri de la lumière, mais pas trop longtemps car il y a des oxydations à l'air. Il est conseillé de réaliser les photos en lumière blanche (ou les scans, qui ont notre préférence) le plus vite possible.
- Scannage des images avec les réglages suivants : source mate / taille : 50 % de l'échelle ou 5 x 5 cm / résolution : 1200 DPI / sauvegarde dans le format jpg., en haute qualité. Traitement avec ACDSee 6.0 : rognage de l'image pour éliminer les bordures / Brillance → OK / contraste : -5 / gamma : -1 / sauvegarde.
- Pour les photos des plaques exposées au rayonnement UV, l'exposition est variable selon la puissance de la lampe ; en général, un temps de chauffe d'une minute suffit ; si on laisse trop longtemps sous la lampe, tout est détruit par les UV.
- Nous photographions les chromatogrammes avec un reflex Canon 30D et objectif macro 100 mm ; A. Gerault utilise un Coolpix 995.
- Placer l'appareil numérique en prise de vues automatique ; effectuer la mise au point précise à l'aide d'une mire ; bien éliminer toute source de lumière parasite ; utiliser un petit réflecteur pour égaliser le rayonnement UV sur la plaque ; nous réalisons 3 photos : une en exposition automatique, une en surexposant d'1/2 unité, une en surexposant d'une unité.
- Traitement avec ACDSee 6.0 : rognage de l'image pour éliminer les bordures / Brillance → OK / contraste : -5 / gamma : + 1 / vert : + 1 / sauvegarde.

Etude comparative de chromatogrammes de *Dermocybe sanguinea*



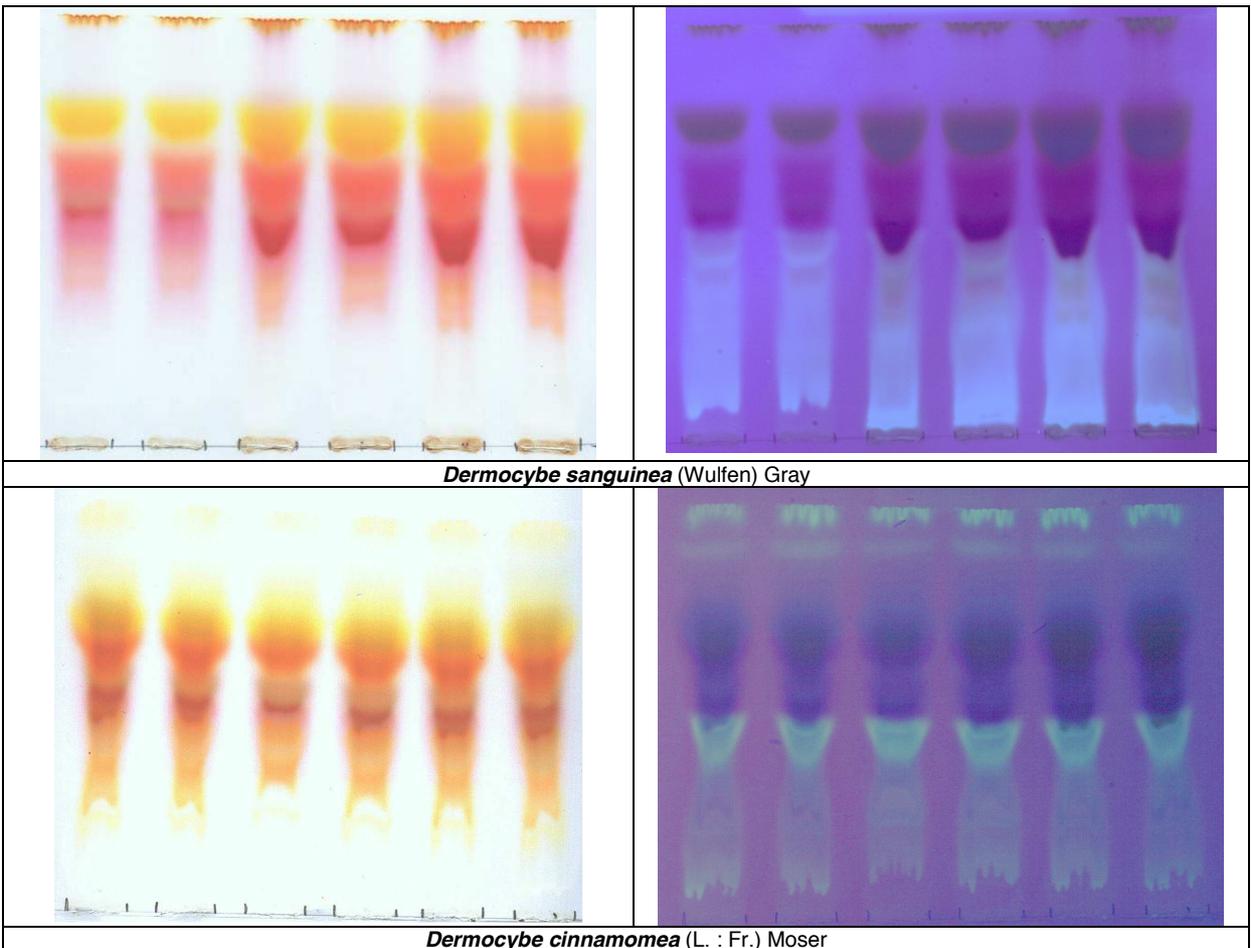
Conditions d'expérimentation : sur base de 5 couches successives, avec séchage forcé (séchoir à cheveux). A gauche, chromatogramme obtenu au départ d'un dépôt étalé sur une bande de 1 cm x 3 mm ; celui de droite résulte d'un dépôt ponctuel de 3 à 4 mm de diamètre. Séchage normal, à température de la pièce.

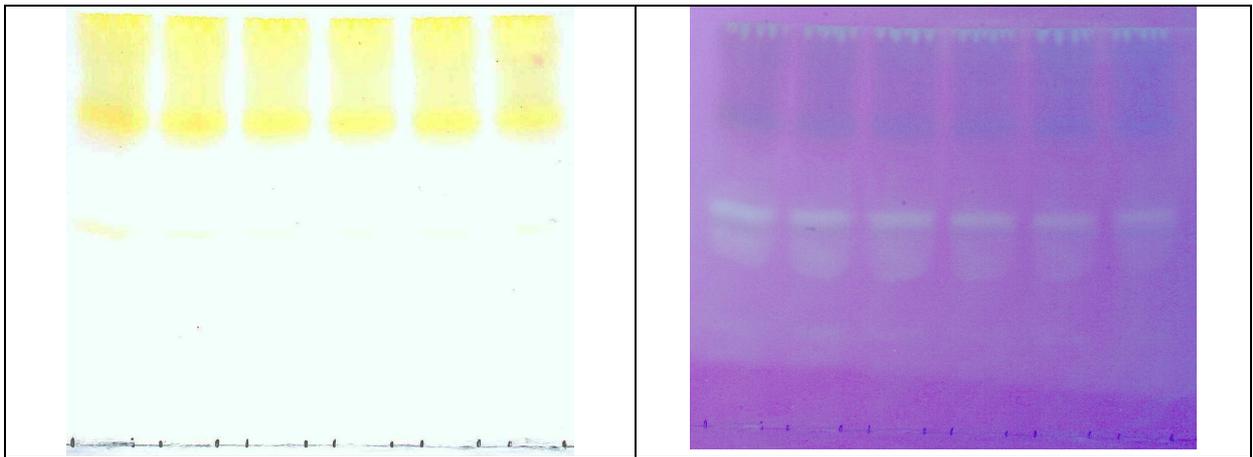


Les mêmes chromatogrammes, photographiés sous éclairage UV ; l'ultraviolet fait apparaître des couleurs non perceptibles en éclairage normal (incandescence, fluorescence ou halogène).

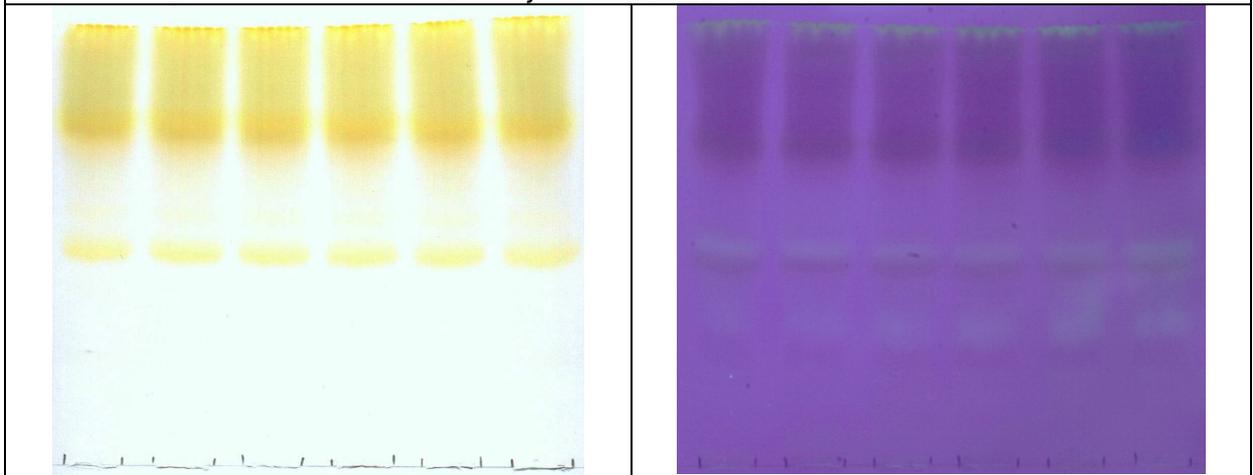
On peut constater que l'observation sous rayonnement UV apporte des renseignements précieux ; il nous paraît également plus judicieux et lisible d'effectuer un dépôt en ligne (1 cm de long) plutôt qu'un dépôt ponctuel.

Divers chromatogrammes tous réalisés dans les conditions d'expérimentation énoncées à la page précédente, et qui vont nous servir d'étalons.

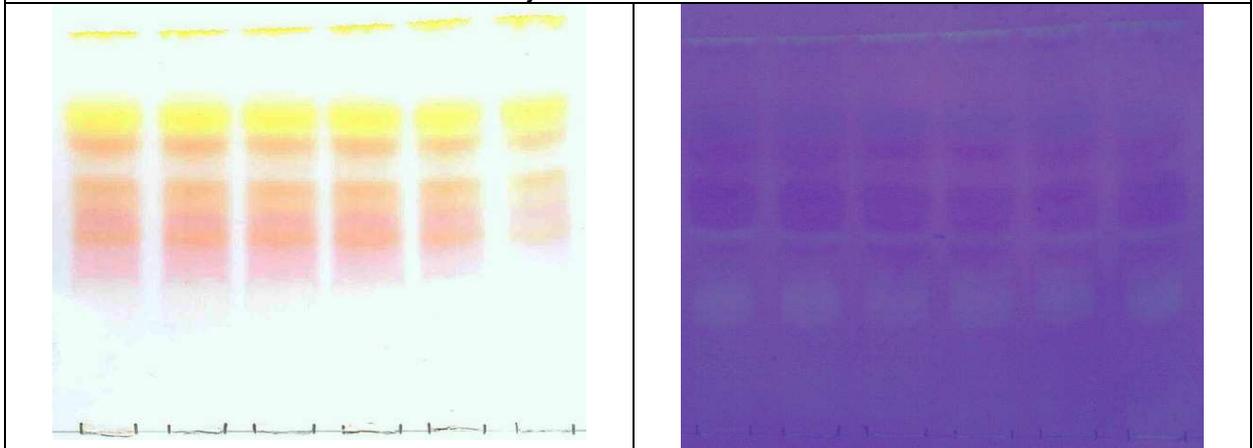




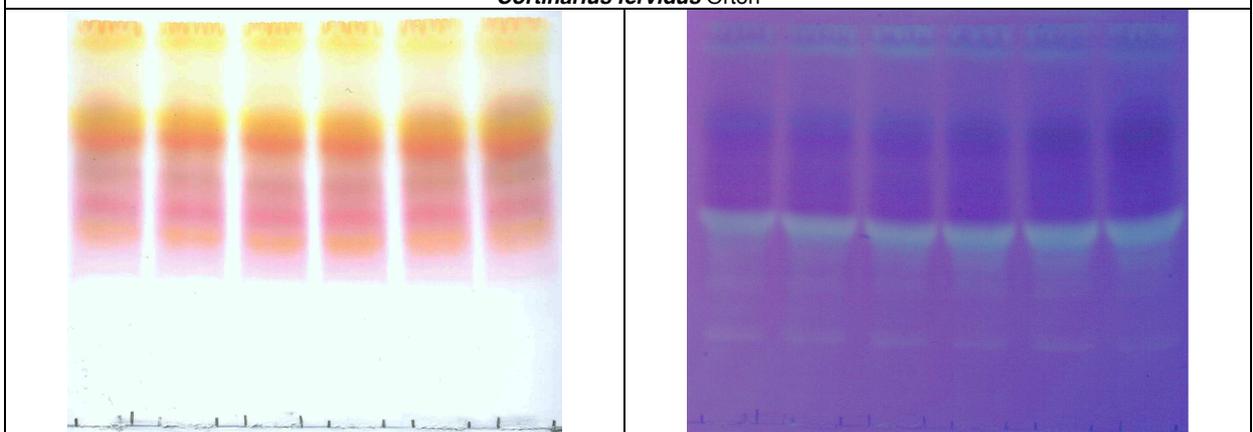
Dermocybe cinnamomeolutes Orton



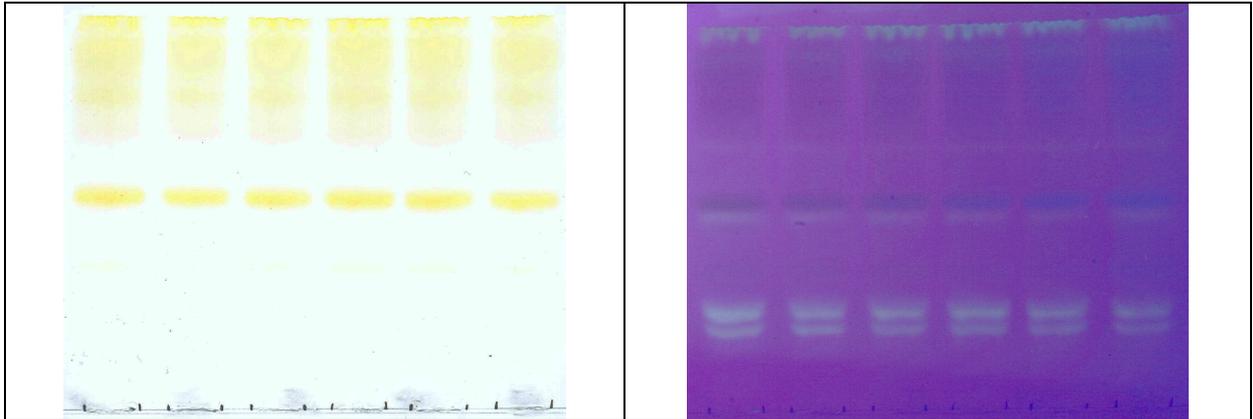
Dermocybe cinnamomeolutes Orton



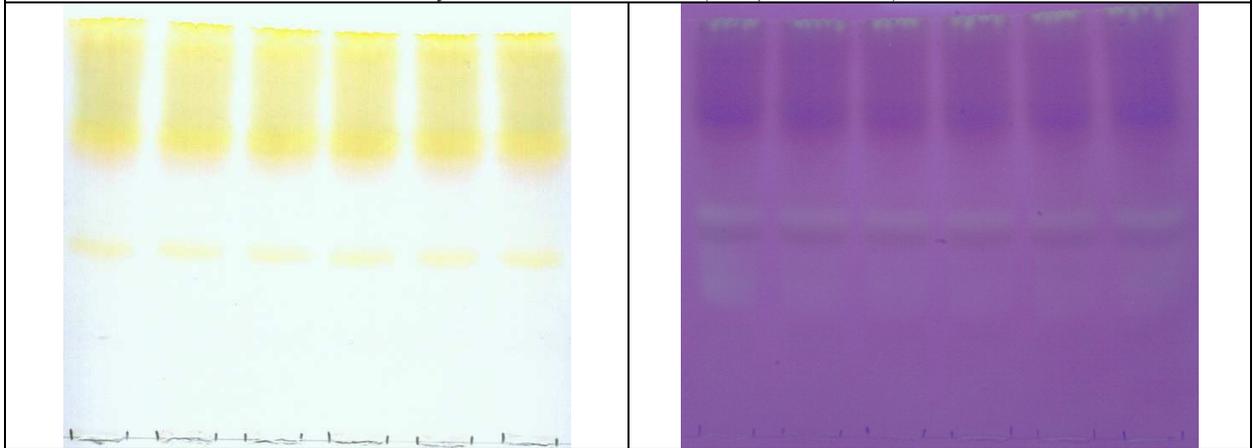
Cortinarius fervidus Orton



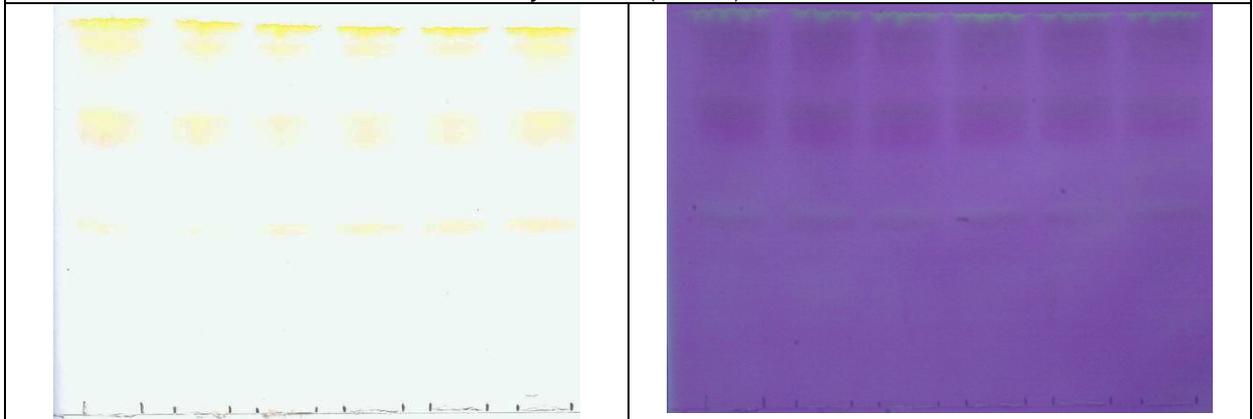
Dermocybe semisanguinea (Fr.) Moser



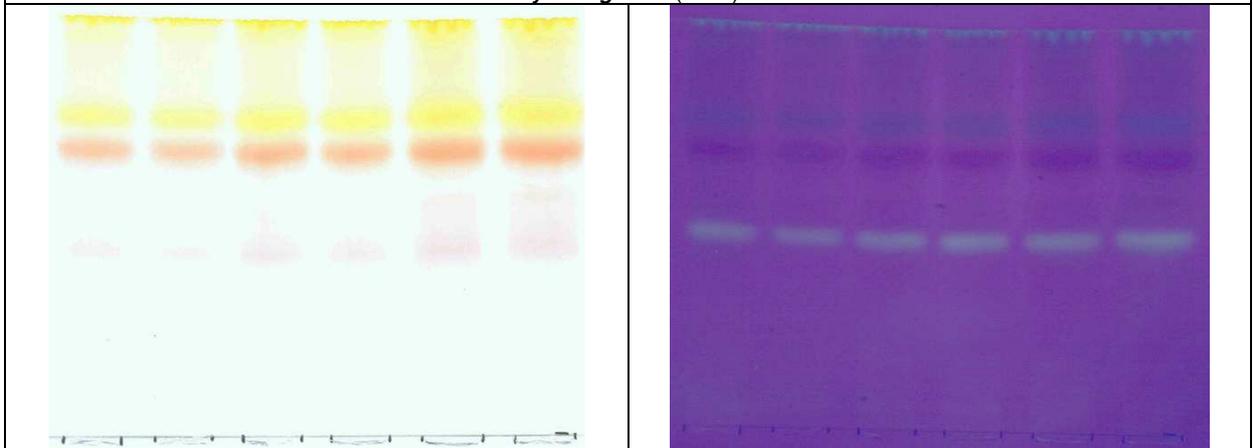
Dermocybe olivaceofusca Kühner (= *carpineti* Moser ?)



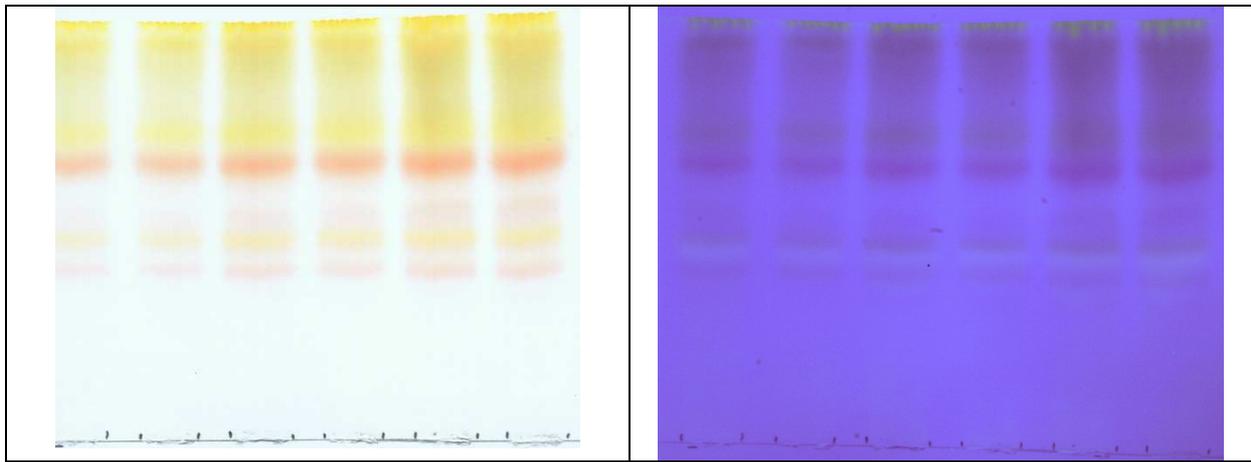
Dermocybe crocea (Schaeff.) Moser



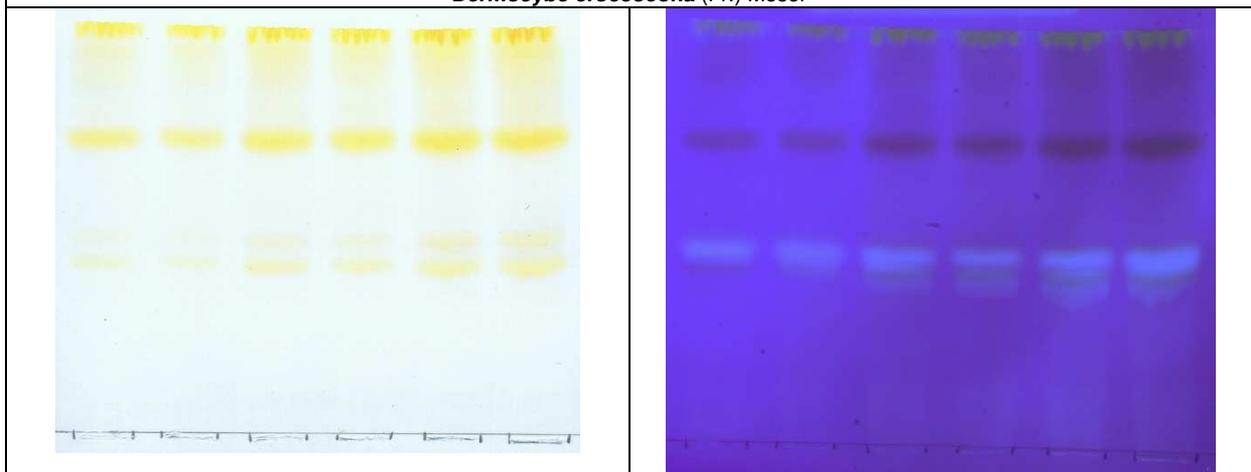
Dermocybe uliginosa (Berk.) Moser



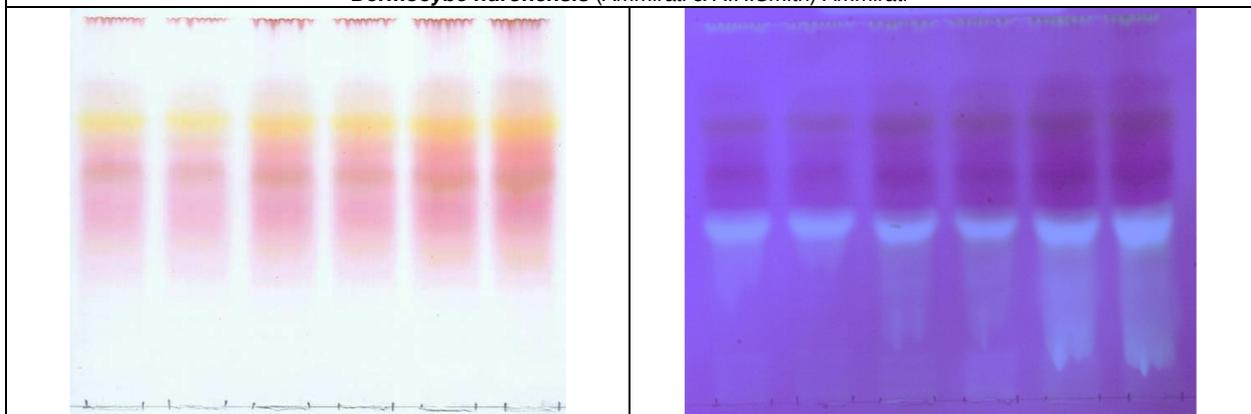
Dermocybe sommerfeldtii Hoiland



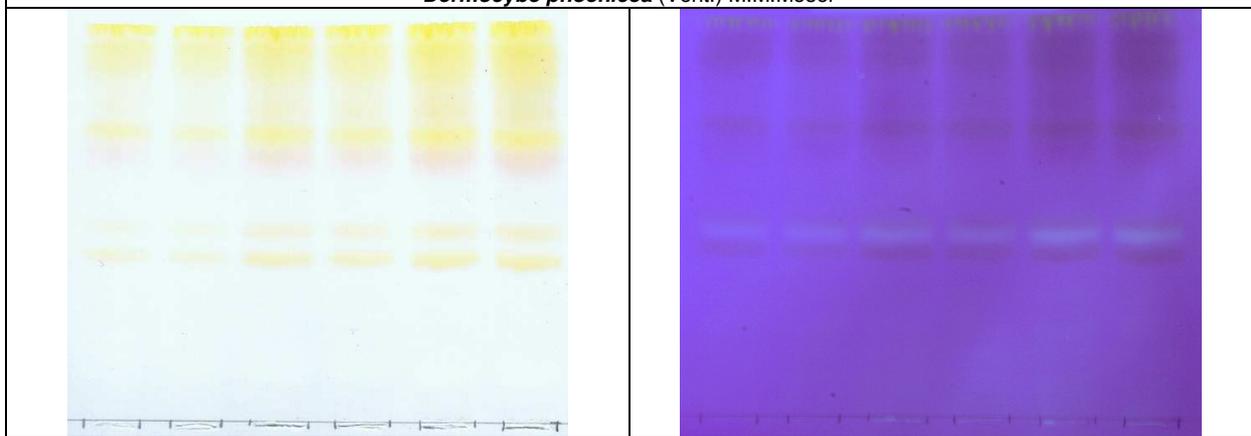
Dermocybe croceocona (Fr.) Moser



Dermocybe huronensis (Ammirati & A.H.Smith) Ammirati



Dermocybe phoenicea (Vent.) M.M.Moser



Dermocybe tubaria (Ammirati & A.H.Smith) Ammirati