Fiche sur la technique de la chromatographie sur couche mince

Publié le 25.11.02 | Par Anthony Bourgeais, Edith Thummen

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés, et la phase stationnaire. La technique présentée ici est la chromatographie sur couche mince (CCM).

1. Introduction

La chromatographie d'adsorption est une technique de séparation de composés basée sur la différence d'affinité existant entre ces composés, la phase mobile, qui entraîne les composés, et la phase stationnaire.

La technique présentée ici est la chromatographie sur couche mince (CCM). Elle utilise une phase stationnaire déposée sur une plaque d'aluminium. La phase mobile est entraînée par capillarité vers le haut de la plaque. Cette technique est très largement utilisée, notamment lors de la réalisation de colonnes, en tant que technique d'analyse.

Au cours de cette séquence nous verrons le principe de cette technique sur deux exemples :

- la séparation de colorants visibles à l'oeil nu
- la séparation de composés non colorés qu'il faudra révéler par un autre moyen.

2. Présentation du matériel

Nous avons ici besoin de ces différents éléments :

- cuve et couvercle,
- papier absorbant,
- plaque de CCM (silice)
- capillaire
- éluants :
  - premier éluant :
    - 70% en volume d'eau salée à 40g/L
    - 30% en volume d'éthanol
  - deuxième éluant :
    - 66% en volume de cyclohexane
    - 33% en volume d'acétone
- colorants : tartrazine, bleu patenté V,

- solution contenant le mélange sirop menthe,
- benzaldéhyde et acide benzoïque.

Revenons sur quelques uns de ces éléments :

- La plaque chromatographique est en général constituée de deux parties : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice, fixée à une plaque rigide en aluminium (c'est le cas ici), en plastique ou parfois en verre. La fixation est assurée par un liant qui peut être du sulfate de calcium hydraté, de l'amidon ou un polymère organique.
- Le papier absorbant, comme on le verra lors de la manipulation, permet de saturer la cuve en vapeur d'éluant, ce qui évitera à l'éluant présent sur la plaque de s'évaporer et donc de perturber l'analyse chromatographique.

3. Mise en place du matériel

On place environ 10 mL d'éluant dans la cuve à chromatographie, afin d'avoir un demi centimètre d'éluant au fond de celle-ci. On y place le papier absorbant et on referme la cuve afin de laisser le temps à l'équilibre liquide/vapeur d'être atteint.

On trace un trait au crayon de papier à environ 1,5 cm du bas de la plaque, sans appuyer et sans y laisser ses empreintes. Ce trait est appelé ligne de dépôt.

4. Réalisation de l'expérience

L'éluant utilisé doit être adapté aux composés à séparer. Dans le cas des colorants du sirop de menthe, on utilisera un mélange constitué de 70 % en volume d'eau salée à 40 g/L et 30 % en volume d'éthanol.

L'étape importante de cette manipulation est le dépôt des espèces chimiques sur la plaque. On dépose à l'aide d'un capillaire les espèces à séparer, diluées dans un solvant, si possible identique à l'éluant ou suffisamment volatil, au niveau de la ligne de dépôt en réalisant des dépôts séparés de 1 à 2 cm entre eux et du bord de la plaque. Il est important de ne pas appuyer le capillaire sur la plaque afin de ne pas la creuser. Il est possible de répéter le dépôt plusieurs fois afin d'augmenter la quantité d'espèces chimiques déposées sans élargir les taches. Il faut dans ce cas attendre que le solvant s'évapore.

Une fois le dépôt réalisé, il suffit de placer la plaque dans la cuve et d'observer la montée du front de solvant.

Lorsque le front de solvant arrive à deux centimètres du haut de la plaque, on la retire et on repère immédiatement par un trait ce front, afin d'indiquer l'endroit où l'éluant est parvenu. Ce trait s'appelle front de solvant.

On peut alors mesurer les rapports frontaux (R_f), qui sont caractéristiques d'une espèce donnée pour un système chromatographique donné et permettent de vérifier que les espèces obtenues sont celles attendues.

On observe dans le cas des colorants la présence de deux taches, l'une située à la même hauteur que la tache issue du dépôt de tartrazine seule, l'autre correspondant au bleu patenté V. On a ainsi mis en évidence la présence de ces deux composées dans le sirop de menthe.

On réalise la même expérience avec le benzaldéhyde non coloré. On utilise une plaque de silice spéciale imbibée d'un agent qui devient fluorescent sous une radiation de longueur d'onde de 254 nm. Les espèces chimiques, qui ici comportent un cycle benzénique, absorbent les rayonnements UV et leur présence empêche toute fluorescence et permet ainsi l'observation de taches sombres sur la plaque à l'endroit où ces espèces chimiques ont migré.

On observe ici deux taches, indiquant que le benzaldéhyde n'est pas pur. On entoure les différentes taches au crayon de papier, ce qui nous permet de visualiser celles-ci à la lumière du jour.



Chromatographie sur couche mince

5. Conclusion

Nous avons vu que la technique de CCM est une technique fiable et rapide. Ceci explique son emploi très fréquent dans les laboratoires. Notons cependant qu'il est parfois indispensable d'utiliser d'autres méthodes de révélation que celles présentées ici comme la révélation au diiode ou à l'acide phosphomolybdique dans le cas de composés oxydables.

CRÉDITS

AUTEUR(S)/AUTRICE(S)

Anthony Bourgeais

Professeur agrégé de chimie

AUTEUR(S)/AUTRICE(S) ET MISE EN LIGNE

Edith Thummen

Professeure agrégée de chimie, conceptrice et responsable éditoriale du site CultureSciences-Chimie de 2002 à 2004 en collaboration avec D. Jaouen et J.B. Baudin, et avec le soutien des membres du département de chimie de l'ENS. Enseignante en CPGE depuis 2004.

LICENCE DU TEXTE DE L'ARTICLE

Creative Commons - Attribution - Pas d'utilisation commerciale