

## TPN°1 : Extraction et caractérisation d'espèces colorées

### I) Chromatographie sur couche mince (CCM) des pigments chlorophylliens

La chromatographie fait intervenir deux phases :

Une **phase**..... constituée d'un solvant appelé .....

Une **phase**....., papier Wattman ou gel de silice sur plaque.

On dépose le mélange à analyser sur la phase fixe, à environ 2 cm du bas.

On place la plaque de chromatographie dans un ..... contenant l'éluant.

Les constituants du mélange sont ..... par l'éluant qui migre sur la phase fixe par .....

La séparation du mélange se fait lors de la migration de la phase mobile et s'explique par un double phénomène :

-

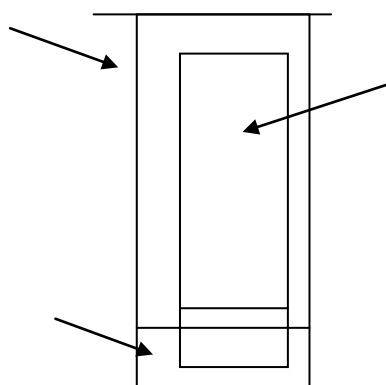
-

Chaque tâche correspond à la présence d'un composé chimique. Sa position sur la plaque est caractéristique de la substance pour une chromatographie donnée.

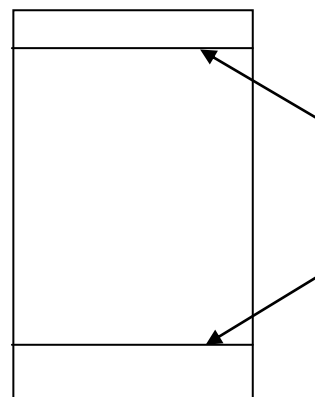
#### Réalisation de la chromatographie

- Verser **5 mL d'éluant** dans le bécher à chromatographie et fermer.
- Découper en morceaux **une ou deux feuilles bien vertes** puis broyer ces morceaux dans un mortier avec un peu de sable afin de bien écraser les cellules.
- Ajouter progressivement **10 mL d'éthanol** pour solubiliser les pigments photosynthétiques.
- Transvaser le contenu du mortier dans un bécher en gardant au maximum les morceaux dans le mortier.
- Sur une bande de papier wattman, déposer à environ 3 cm du bas, une goutte de la solution de chlorophylle brute à l'aide d'un capillaire. Laisser sécher et répéter la manipulation.  
attention : veiller à tenir le papier par les bords !
- Suspender le papier dans la cuve en vérifiant que la tache de chlorophylle se situe au-dessus du liquide.
- Placer la cuve dans l'obscurité pendant une demi-heure environ.

1°/ Légènder le schéma de l'expérience et compléter le schéma du chromatogramme obtenu :



La CCM



Le chromatogramme

2°/ Expliquer pourquoi :

- Il est nécessaire que le papier reste bien droit au cours de la migration de l'éluant.
- Les gouttes de mélanges déposées doivent être initialement hors de l'éluant.

3°/ **Mesurer** les distances parcourues par chaque constituant : *entre « ligne de dépôt » et « haut de la tache » obtenue.*

4°/ **Mesurer** la distance parcourue par l'éluant : entre « ligne de dépôt » et « front de solvant ».

5°/ **Calculer** le « rapport frontal  $R_f$  =  $\frac{\text{hauteur } h \text{ atteinte par la tache}}{\text{hauteur } H \text{ parcourue par l'éluant}}$  » de chaque constituant.

6°/ **Conclure** sur l'expérience :

## II) Influence du pH sur la couleur

Certaines espèces chimiques colorées changent de couleur en fonction de la nature du milieu dans lequel elles évoluent. Par exemple, certaines fleurs ont des couleurs différentes selon les caractéristiques du sol. Nous allons étudier l'influence du pH sur la couleur du chou rouge.

1°/ pH et couleur

- On dispose de 5 solutions de pH donné (**pH = 2, 5, 7, 10 et 12**). Prélever **5 mL de chaque solution** dans des tubes à essais différents
- Placer ces tubes par ordre de pH croissant. Verser une quinzaine de gouttes de la solution de jus de chou rouge dans chaque tube. Agiter légèrement le tube et observer les couleurs.
- Observer également les deux tests réalisés au bureau avec le BBT et le jus de tomate.

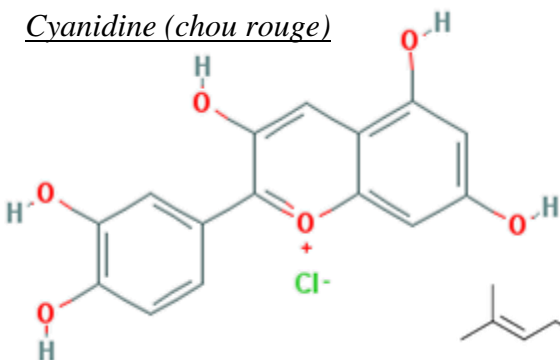
2°/ La valeur du pH influence-t-elle toujours la couleur des espèces chimiques colorées ?

3°/ Observer les molécules ci-dessous :

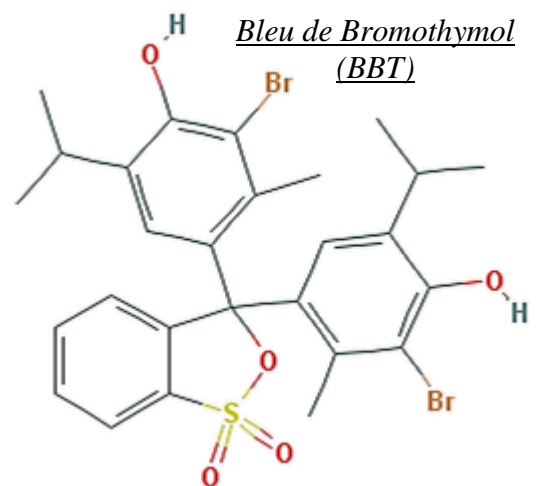
- **Entourer** les groupes caractéristiques qu'elles contiennent.
- **Identifier** les molécules pour lesquelles la couleur varie en fonction du pH.

Quel groupe caractéristique commun retrouve-t-on dans ces molécules ?

Cyanidine (chou rouge)



*Ces molécules sont appelées indicateurs colorés de pH.*



Lycopène (tomate)

