












<b>2019</b>	Séquence – D
<b>TP – 01</b>	<b>Séparer des composés colorés</b>

<p><b>Introduction</b></p> <p>Nous avons vu comment il est possible de séparer les différents constituants d'un mélange, d'un point de vue théorique. Nous allons maintenant le mettre en pratique.</p> <p>Il s'agit d'un travail analytique : nous allons déterminer le contenu en pigment d'une feuille d'épinard. La feuille apparaît en vert : on peut supposer qu'il n'y a qu'un seul pigment, réfléchissant la lumière verte. MAIS, d'un point de vue écologique, il est plus intéressant de posséder plusieurs pigments, afin de capter TOUTES les longueurs d'onde de la lumière. Ainsi, la ressource est exploitée au maximum, la plante peut pousser dans des conditions optimales.</p> <p>Rappel : les pigments sont impliqués dans le processus de photosynthèse, qui permet de fabriquer des cofacteurs réduits (l'inverse de la respiration), en utilisant les hydrogènes et les électrons de l'eau pour les donner à des cofacteurs. Les hydrogènes permettent également de fabriquer de l'ATP (voir <u>document 01</u>).</p>	
<p><b>Problématique</b>  <i>Quels sont les pigments qui participent à la photosynthèse, chez l'épinard ?</i></p>	
<p><b>Objectifs méthodologiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Extraction chimique ;</li> <li>CCM.</li> </ul>	<p><b>Connaissances</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Les pigments chlorophylliens ;</li> <li>La polarité des molécules ;</li> <li>Le rapport frontal.</li> </ul>
<p><b>Points de vigilance</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Préparation de la plaque de CCM ;</li> <li>Utilisation des solvants sous la hotte ;</li> <li>Marquage du front de migration ;</li> <li>Calcul du Rf ;</li> <li>Gestion des déchets.</li> </ul>	<p><b>Livrables – Evaluation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Compte-rendu écrit complet et individuel.</li> </ul>
<p><b>Organisation du travail</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>TRAVAIL INDIVIDUEL !</li> </ul>	
<p><b>Documentation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Document 01</li> <li>➤ Document 02</li> <li>➤ Document 03</li> <li>➤ Document 04</li> </ul>	<p><b>Fiches techniques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Organigramme de gestion des déchets</li> <li>➤ Fiche technique FT00-PREP08</li> </ul>

## Sécurité

Nom du produit	Pictogramme	Mentions de danger	Conseils de prudence
Ethanol 	 	H225, H319	P210, P305 + P351 + P338, P370 + P378, P403 + P235
Acétate d'éthyle 		H225, H319, H336	P210, P233, P261, P280, P303 + P361 + P353, P370 + P378
Cyclohexane 	   	H225, H304, H315, H336, H410	P210, P261, P273, P301 + P310, P331, P501

Réaliser l'analyse de risque liée à l'utilisation du solvant de migration (mélange acétate d'éthyle/cyclohexane) ;  
Déterminer la couleur de bidon de déchet adéquate pour ce type de mélange.

### Consigne 1 – Analyse des principaux pigments végétaux

1. **Rappeler** la définition d'un spectre d'absorbance ;
2. Sachant que les pigments « phyco- » n'existent que les chez algues, **justifier** que la grande partie des végétaux terrestres apparaissent verts, en vous aidant du document 02 ;
3. **Identifier**, sur le document 03, les pigments végétaux, sachant que :
  - a. Les chlorophylles possèdent un hème à magnésium ;
  - b. La chlorophylle b porte une fonction aldéhyde supplémentaire ;
  - c. Xanthophylle et  $\beta$ -carotène sont des molécules possédant une symétrie centrale ;
  - d. Le  $\beta$ -carotène n'est pas un alcool.
4. **Justifier** que les pigments végétaux sont très apolaires ;
5. **Indiquer** la position des pigments dans le chloroplaste (organite spécialisé dans la photosynthèse), en le justifiant :
  - a. Dans le *stroma*, une matrice liquide très riche en eau ;
  - b. Dans la membrane, barrière faite de lipides.
6. **Classer** les pigments végétaux par niveau de polarité, du plus polaire au moins polaire ;

*Note : la molécule d'eau est « polarisée », avec un atome d'oxygène quasiment chargé négativement et des atomes d'hydrogène quasiment chargés positivement. Ce phénomène est lié à l'attraction qu'exerce le noyau de l'atome d'oxygène sur les électrons des hydrogènes.*

7. Sachant que sur une plaque de CCM, les molécules les plus polaires restent en bas, **dessiner** la répartition théorique des pigments sur la plaque, après migration ;
8. **Justifier** que l'on utilise un solvant moins polaire que l'eau pour extraire les pigments végétaux ;

**Avant de démarrer l'extraction des pigments, mettre en œuvre la partie A de la fiche technique FT, avec le mélange M (sous la hotte).**

### **Consigne 2 – Extraction des pigments d'épinards**

9. **Extraire** les pigments d'épinards selon la procédure suivante ;
  - a. **Prélever** 5 g de feuilles d'épinards ;
  - b. Dans un mortier, **ajouter** : les feuilles, 10 mL d'éthanol et une pincée de sable de Fontainebleau ;
  - c. **Broyer** les feuilles à l'aide d'un pilon ;
  - d. **Filtrer** le broyat sur .....

### **Consigne 3 – CCM des pigments d'épinards**

10. **Mettre en œuvre** la procédure de CCM, avec le filtrat obtenu, selon les consignes fournies dans la fiche technique FT00-PREP08 ;
11. **Rappeler**, à l'aide d'un schéma, le principe du calcul du rapport frontal =  $R_f$  ;
12. Pour chacune des tâches obtenues, **calculer** la valeur de  $R_f$ . **Présenter** les résultats sous la forme d'un tableau ;
13. **Comparer** les valeurs obtenues à celles présentées dans le document 04 ;
14. **Identifier** les pigments sur la CCM ;
15. **Comparer** les résultats obtenus à la réponse donnée à la question 7.