

BUT

→ Extraire (et séparer) le(s) pigment(s) responsable(s) de la couleur de feuilles d'épinards.

I. HYPOTHÈSES

La couleur des feuilles est-elle due à une seule espèce chimique ?

Proposez un protocole expérimental permettant de vérifier vos hypothèses.

II. EXTRACTIONS DU(DES) PIGMENT(S) DES FEUILLES D'ÉPINARDS

a. MANIPULATION

- Placer dans un mortier un peu de sable.
- Ajouter 3,0 g de feuilles d'épinards bien vertes coupées en petits morceaux à la main.
- Broyer à sec les feuilles (destruction des parois cellulaires).
- Ajouter 5 mL d'éthanol (mesurés avec une éprouvette graduée de 10 mL) pour solubiliser certaines substances et continuer à broyer pendant 5 minutes, jusqu'à ce que le solvant soit vert foncé.
- Filtrer le contenu du mortier dans un erlenmeyer. La solution obtenue est de la **chlorophylle brute**.

b. EXPLOITATIONS DES RÉSULTATS

1. *Faire le schéma de l'expérience et noter vos observations.*
2. *Quel est le type d'extraction réalisée ?*

III. SÉPARATION DES PIGMENTS PAR CHROMATOGRAPHIE

a. MANIPULATION

Nous allons réaliser une chromatographie sur papier. L'éluant utilisé est un mélange constitué, en volume, de 60 % d'éther diéthylique et de 40 % de cyclohexane.

- Placer l'éluant dans la cuve à chromatographie, sur une hauteur d'environ 0,5 cm, et fermer la cuve avec le couvercle.
 - Sur une bande de papier à chromatographie tracer une ligne de dépôts, au crayon à papier, à environ 1 cm du bord inférieur. Indiquer au milieu de cette ligne un point de dépôt.
 - Déposer, à l'aide d'un pic apéritif légèrement écrasé, plusieurs gouttes de solution de chlorophylle brute sur le point de dépôt, en séchant par agitation de la feuille entre chaque dépôt de goutte, jusqu'à obtenir une tache bien colorée.
 - Fixer le papier à chromatographie sur le couvercle, placer-le dans la cuve à chromatographie puis refermer-la. **La ligne de dépôt devant être juste au dessus de la surface de l'éluant.**
 - Laisser monter l'éluant par capillarité jusqu'à environ 1 cm du bord supérieur. **Il est important de ne pas bouger le flacon jusqu'à la fin de l'élution !**
3. *Faire le schéma de l'expérience et noter vos observations.*
 - Sortir le papier à chromatographie et marquer le front de l'éluant à l'aide d'un trait au crayon à papier, c'est à dire l'endroit où s'est arrêté l'éluant.

b. EXPLOITATIONS DES RÉSULTATS

Les feuilles d'épinards contiennent entre autres :

- du carotène de coloration jaune,
- de la chlorophylle a de coloration vert-bleu,
- de la chlorophylle b de coloration vert-jaune,
- différents xanthophylles de coloration jaune.

4. *Rappeler le rôle d'une chromatographie.*
5. *Pourquoi le dépôt ne doit-il pas tremper dans l'éluant ?*
6. *Reproduire sur le compte-rendu le papier à chromatographie obtenue.*
7. *Combien obtient-on de tâches ? Essayer d'attribuer un colorant à chacune des tâches.*
8. *Rappeler la définition du rapport frontal et calculer les 4 rapports frontaux.*
9. *Quelle opération lors de la chromatographie précédente aurait-il été judicieux de réaliser pour identifier le carotène avec certitude ?*