

# TP de Chimie n°6

## Chromatographie des pigments végétaux

### 1 Introduction

La *chromatographie* est une méthode utilisée pour l'identification d'espèces chimiques.



On va réaliser la chromatographie des pigments contenus dans une belle feuille verte d'épinards frais.

### 2 Choix de l'éluant

Le solvant que l'on va utiliser est appelé *éluant*. Les substances chimiques à analyser sont plus ou moins solubles dans l'éluant ; celui-ci va se déplacer (*migrer*) par capillarité le long de la plaque, entraînant plus ou moins les substances déposées.

Ce « plus ou moins » est l'une des difficultés majeure de la chromatographie : il convient de bien choisir l'éluant, afin d'avoir des résultats exploitables.

- a. Notez la composition de l'éluant utilisé pour la chromatographie des pigments végétaux.

### 3 Préparation de la cuve

Pour éviter que l'*éluant* ne s'évapore au fur et à mesure de sa montée par capillarité sur la plaque, il est très important de saturer la cuve en vapeurs d'éluant, en plaçant l'éluant dans la cuve au moins dix minutes avant d'introduire la plaque, et en bouchant la cuve.

Ici la cuve est soit une grande éprouvette graduée, soit un pot de bébé. Versez un peu d'éluant dans le fond du récipient, en ne dépassant par un demi centimètre de hauteur (pour ne pas risquer de noyer les dépôts par la suite).

### 4 Ligne de dépôt

Le dépôt du mélange de pigments va être réalisé sur une plaque formée soit d'une bande de papier Whatman, papier spécialement prévu pour effectuer des chromato-

graphies de pigments végétaux, soit d'une plaque d'aluminium recouverte de silice (sable très fin), dite « plaque CCM ».

Veillez à prendre le papier ou la plaque uniquement par les bords, sans poser vos doigts sur la zone de migration !

Tracez un trait au bas de la bandelette ou de la plaque, au crayon de papier uniquement, à 2 cm du bord : la *ligne de dépôt*. Repérez sur ce trait deux positions, par des tirets ou des croix équidistants.

### 5 Dépôt du mélange de pigments

À l'aide d'une baguette de verre, écrasez directement un morceau de feuille sur chaque repère de la ligne de dépôt. Répétez l'opération d'écrasement plusieurs fois exactement au même endroit, sans déborder, jusqu'à obtenir une tâche très colorée.

La tâche doit être la plus petite possible !

- b. Sur votre compte-rendu, dressez un schéma représentant la plaque et ses dépôts.

### 6 Développement de la plaque

Le développement consiste à faire monter l'éluant sur la plaque par capillarité. Pour cela, le bas de la bandelette de papier Watman ou la plaque CCM doit tremper dans l'éluant, mais sans que le niveau de liquide placé au fond de la cuve ne soit à hauteur des dépôts.

L'éluant ne doit pas submerger les dépôts.

- c. Indiquez la raison pour laquelle l'éluant ne doit pas noyer les dépôts, mais seulement monter jusqu'à eux par capillarité.

Placez rapidement la bandelette au crochet du bouchon ou la plaque CCM directement dans la cuve, et refermez l'ensemble.

L'ensemble doit être laissé parfaitement immobile tout au long du développement.

De plus, les pigments végétaux sont sensibles à la lumière. Pour cette raison, on peut éventuellement placer le cache noir autour de l'éprouvette ou de la cuve, sans faire bouger l'ensemble.

- d. Dresser un grand schéma légendé et à la règle de la cuve avec la plaque en cours de développement.

## 7 Fin de l'éluant

Lorsque le front de l'éluant est suffisamment monté sur la bandelette, la retirer de la cuve. Repérez alors rapidement le *front de l'éluant*, à l'aide d'un trait au crayon de papier, et séchez par agitation.

Toute trace de l'éluant disparaissant avec son évaporation, repérer le front de l'éluant est essentiel.

Entourez alors les tâches visibles au crayon de papier.

- e. Identifiez chaque tache, en vous aidant du texte explicatif sur les pigments végétaux.
- f. Parmi les différentes tâches, indiquez celles qui ont la plus grande affinité pour la *phase fixe*, et celles qui ont plutôt une affinité pour la *phase mobile*.

## 8 Calcul des rapports frontaux

- g. En notant  $H$  la hauteur à laquelle est monté l'éluant, et  $h_1, h_2, \text{etc.}$ , les hauteurs des tâches n°1, n°2, etc., calculez les *rapports frontaux*  $R_{f1}, R_{f2}, \text{etc.}$  correspondants :

$$R_{f1} = \frac{h_1}{H} \quad R_{f2} = \frac{h_2}{H} \quad \text{etc.}$$

- h. La chromatographie fait intervenir de nombreux mots nouveaux ; sur votre compte-rendu, réalisez un petit *glossaire* regroupement tous ces mots et leurs définition.

Avant de quitter la salle, assurée vous que l'éprouvette graduée a été couchée sur la table afin d'éviter au maximum les risques de casse.

*Bonnes vacances de Noël!*

### Les pigments végétaux

La chlorophylle est un pigment présent dans toutes les plantes vertes sur Terre. C'est grâce à cette molécule que la plante est capable de réaliser la photosynthèse, c'est à dire la préparation de glucose (le carburant de la plante) à partir de molécules organiques simples (eau et dioxyde de carbone) sous l'action de la lumière visible. Son nom en référence à la couleur verte (chloro) des feuilles (phylle).

Les chlorophylles a et b sont les plus abondantes chez les plantes ; à l'automne, les feuilles des arbres perdent leur teinte verte de l'été pour des couleurs allant du jaune au rouge sombre. Ce changement de couleur est du à la dégradation des chlorophylles a et b. Ainsi, sous l'action d'enzymes, la chlorophylle verte va être transformée en des molécules tout d'abord rouges puis incolores. Les autres pigments de la plante (telles les caroténoïdes) ne seront plus cachés par le vert de la chlorophylle et ce sont eux qui seront responsables des couleurs jaunes que va prendre la feuille.

\* \*  
\*

Seconde – TP de Chimie 6  
Épinards

**Au bureau**

- Épinards
- Capillaires
- Lampe UV
- Flacon avec sable + diiode
- Alcool à 90°
- 14 plaques CCM
- Carrés de papier-filtre
- Sable
- Éluant éther de pétrole/éther diéthylique 40/60

**×7 groupes**

- 2 béchers
- 1 paire de ciseaux
- Cuve chromato
- Crayon de papier + règle
- Mortier et pilon
- Entonnoir + support de filtration