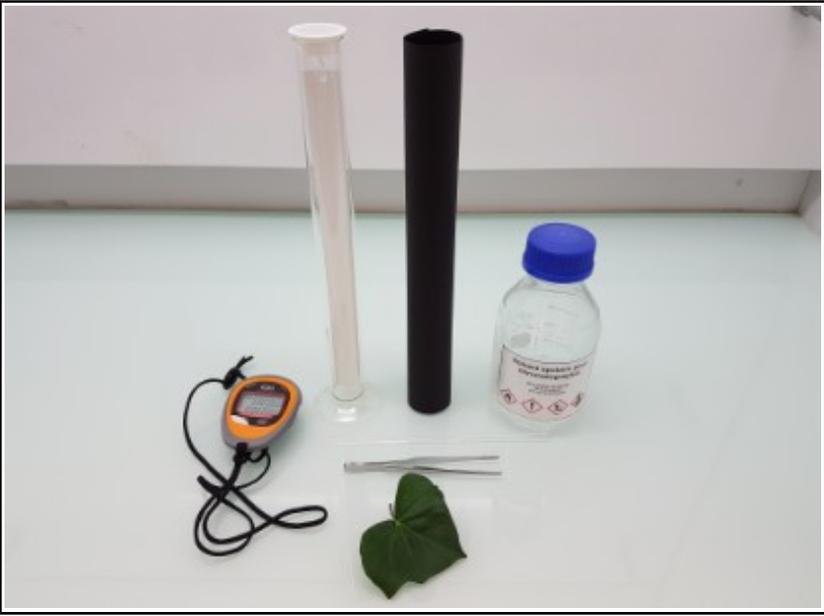


Séparation des pigments photosynthétiques par chromatographie

Objectifs	Niveau possible
<p>- Mise en évidence des différents pigments photosynthétiques présents dans les chloroplastes</p>	<p>Niveau(x) - Terminales S spécialité SVT</p> <p>Thème du BO - Énergie et cellule vivante</p>
Matériel et solutions	Sécurité et hygiène
<p>Matériel d'étude - 1 feuille verte (ex : lierre, pélagonium, épinard, ...)</p> <p>Verrerie - 1 éprouvette à chromatographie - 1 agitateur en verre</p> <p>Consommable - 1 bande de papier à chromatographie</p> <p>Appareil - 1 chronomètre</p> <p>Solution(s) - Éluant apolaire pour chromatographie </p> <p>Autre - 1 pince - 1 cache noir</p> 	<p>Fiches toxicologiques de l'INRS des produits utilisés pour la préparation et/ou manipulation</p> <p>→ Éther de pétrole http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_96</p>  <p>→ Acétone http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_3</p>  <p>→ Cyclohexane http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_17</p>  <p>Se référer régulièrement à la fiche FDS de votre fournisseur pour les mises à jour.</p> <p>Précautions de manipulation</p>  <p>Rejet des déchets et recyclage</p> <p>L'<u>éluant</u> à chromatographie est à jeter dans un bidon rouge « Effluents organiques ou aqueux non CMR »</p> 
Protocole	
<p>Préparation de l'éluant - Pour 100 ml d'éluant, mélanger 85 ml d'éther de pétrole avec 10 ml d'acétone et 5 ml de cyclohexane <u>Remarques</u> : la préparation de l'éluant doit être faite sous une hotte ou sous une sorbonne</p>	

Préparation de l'éprouvette

- A l'aide d'une pince, **suspendre** le papier à chromatographie au crochet fixé sous le bouchon de l'éprouvette
Remarque : Veiller à ne pas toucher la zone de migration avec les doigts
- **Refermer** l'éprouvette avec le papier suspendu
- **Tracer** sur l'éprouvette un repère à un demi-centimètre au dessus du bas de la bande de papier
- Sous une hotte, **retirer** le papier de l'éprouvette, puis **verser** l'éluant jusqu'au repère
Remarque : Verser l'éluant à l'aide d'une pipette en verre afin d'éviter les éclaboussures sur les parois de l'éprouvette
- **Refermer** l'éprouvette sans mettre la bande de papier à chromatographie

Remarque : Pour une meilleure sécurité des élèves, il est important que ces derniers ne manipulent pas l'éluant. La préparation de l'éluant et de l'éprouvette doit donc être effectuée par l'enseignant ou par le personnel technique.

Préparation de la bande de papier à chromatographie

- **Tracer** un trait au crayon à papier à 2 cm du bas de la bande de papier

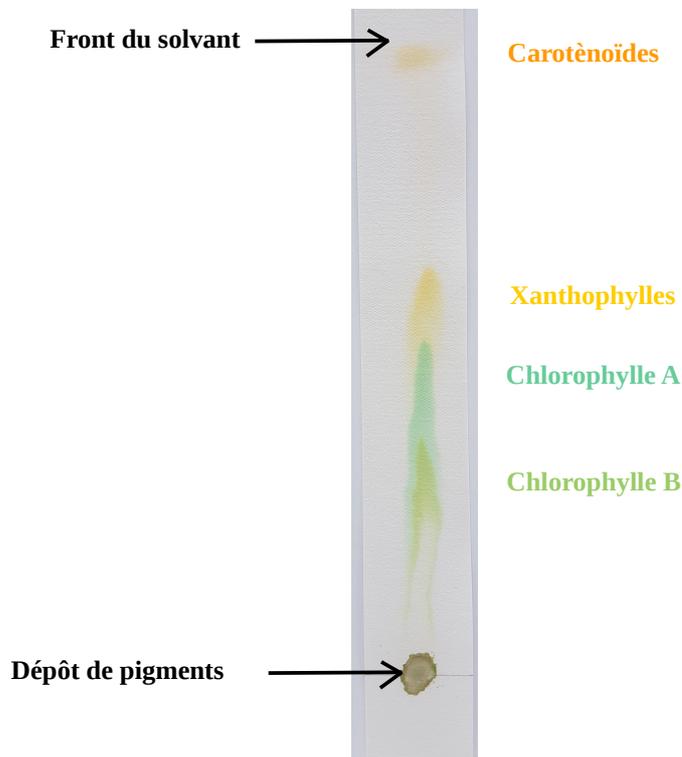
Dépôt et migration des pigments

- A l'aide d'un agitateur en verre, **écraser** un petit morceau de feuille au milieu du trait. **Répéter** plusieurs fois l'opération sur le même emplacement, en renouvelant le morceau de feuille
Remarque : La tâche de pigments doit être aussi petite et foncée que possible
- Sous la hotte, **replacer** le papier à chromatographie dans l'éprouvette, à l'aide du crochet du bouchon, en vérifiant que :
 - la bande de papier à chromatographie ne touche pas les parois de l'éprouvette
 - les dépôts de pigments restent bien au-dessus du niveau de l'éluant
 - le papier trempe d'un demi-cm dans l'éluant
 - l'éprouvette soit bien refermée
- **Recouvrir** l'éprouvette avec le cache noir et **laisser migrer** le solvant à l'obscurité pendant 30 à 45 minutes.

Révélation de la migration

- Sous la hotte, **retirer** la bande de papier et **laisser sécher** 2-3 min à l'air libre, puis **observer**
Remarque : la visibilité des pigments s'estompe avec le temps
Conseil : Repérer l'emplacement des différents pigments avec un crayon à papier

Résultats



Chromatogramme de pigments photosynthétiques de lierre
après 45 minutes de migration

Remarques et ressources complémentaires

Remarque

La même manipulation peut être effectuée avec des feuilles pourpres telles que les feuilles de prunus. Le chromatogramme sera le même sauf qu'il restera une tâche rouge (Anthocyanes) au niveau du dépôt de pigments car ces derniers sont des pigments polaires (soluble dans l'eau).

Informations

Auteur : MALVERT Anthony, ATPRF au Lycée Aimé Césaire à Clisson, le 06/03/2019