

AE-1ERS : EXTRACTION, SEPARATION ET IDENTIFICATION DE MOLECULES COLOREES

Dans les végétaux on trouve des molécules responsables de leurs colorations. C'est le cas des épinards qui contiennent entre autres : de la **chlorophylle a**, de la **chlorophylle b**, des **carotènes** (β carotène, lycopène) et des **xanthophylles** (violaxanthine, néoxanthine).

On se propose dans cette activité expérimentale d'extraire, de séparer et d'identifier certaines molécules colorées des épinards.



I. Séparation et identification - CCM

1) Protocole

Conseil : Bien lire chaque étape avant de passer à la réalisation.

- Récupérer sur la paillasse professeur une cuve à chromatographie préalablement préparée (éprouvette graduée contenant un peu d'éluant : ici, un mélange de cyclohexane, d'éther de pétrole et d'éther diéthylique.

Attention : la cuve doit toujours être maintenue fermée !

- Sur le papier à chromatographie, tracer au crayon une ligne de dépôt à 2 cm environ du bord inférieur.
- A l'aide d'un agitateur en verre, écraser une feuille d'épinard au centre de la ligne de dépôt afin d'en extraire le jus. Renouveler l'opération au même endroit au moins 5 ou 6 fois pour obtenir un dépôt important. Conserver la feuille d'épinard pour l'extraction de la partie II.
- A l'aide d'un crochet, positionner verticalement le papier à chromatographie dans la cuve à chromatographie.

Attention :

- *La ligne de dépôt doit se situer au-dessus de l'éluant.*
- *Une fois le papier à chromatographie introduit, ne plus bouger l'éprouvette !!*
- Placer un cache autour de la cuve à chromatographie pour la protéger de la lumière.
- Laisser l'élution se faire pendant 30 minutes environ. De temps en temps, sans déplacer la cuve soulever le cache pour contrôler l'avancement de l'élution.
- Après environ 30 min, sortir le papier à chromatographie et tracer le front haut de l'éluant.
- Laisser sécher.

→ On obtient alors un chromatogramme

2) Questions

A l'aide des documents 1 et 2, répondre aux questions suivantes :

- a- De quelle couleur sont les carotènes et les xanthophylles ?
- b- Justifier la couleur verte de la chlorophylle a et de la chlorophylle b. L'une d'entre elles a sa couleur qui « tire » vers l'orange. Laquelle ?
- c- Dans la structure des molécules, qu'est-ce qui peut expliquer leur caractère coloré ? la différence de couleur entre les deux types de chlorophylle ?

Une fois l'élution terminée, répondre aux questions suivantes :

- d- Schématiser le chromatogramme obtenu.
- e- A l'aide du chromatogramme obtenu :
 - Justifier que la chromatographie a permis de séparer les quatre molécules colorées indiquées en gras dans l'introduction du TP.
 - Quelle(s) molécule(s) colorée(s) peut-on identifier sur le chromatogramme.
- f- A l'aide du document 6, identifier les deux espèces chimiques responsables des deux taches jaunes obtenues.
- g- Déterminer le rapport frontal d'une des espèces de votre choix. Comparer votre valeur à celle donnée dans le tableau du document 6. Proposer des raisons permettant d'expliquer la différence.

II. Extraction – extraction liquide/liquide

1) Protocole

- Prélever environ 40 mL d'éthanol.
- Dans un mortier, couper la feuille d'épinards utilisée précédemment en morceau et ajouter quelques millilitres d'éthanol.
- Broyer la feuille à l'aide d'un pilon jusqu'à apparition d'une solution colorée vert foncé.
- Poursuivre le broyage en ajoutant progressivement le reste d'éthanol.
- Filtrer le contenu du mortier dans un bécher.
- Verser le filtrat dans une ampoule à décanter.
- Ajouter environ 20 mL de cyclohexane (prélèvement à effectuer sous la hotte avec des gants et des lunettes).
- Après avoir remis le bouchon (et en gardant un doigt dessus par sécurité !), agiter vigoureusement l'ampoule à décanter en évacuant la surpression par le robinet deux ou trois fois.
- Reposer l'ampoule sur son support puis laisser décanter le mélange.
Remarque : En toute rigueur, pour faciliter la décantation, il faudrait enlever le bouchon. Mais au vu du solvant utilisé, on préfère limiter l'échappement des vapeurs de cyclohexane ici. De ce fait, on laissera l'ampoule à décanter bouchée lors de cette étape.
- Une fois la décantation terminée, récupérer les deux phases séparément dans un bécher.
Remarque : Rapidement, verser la phase organique dans un flacon prévu à cet effet sous la hotte.

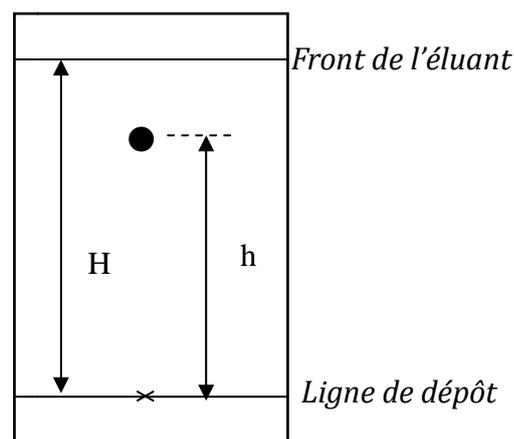
2) Questions

- a- Quelles précautions faut-il respecter pour manipuler l'éthanol ? le cyclohexane ?
- b- Quel est le rôle de l'éthanol dans l'expérience ?
- c- Quelles conditions doit vérifier un solvant extracteur pour être utilisé dans une extraction liquide/liquide ? Vérifier que le cyclohexane vérifie ces conditions en précisant les espèces chimiques qu'il permet d'extraire.
- d- Schématiser le contenu de l'ampoule avant agitation et précisant ce que contient chaque phase. Faire un schéma similaire après agitation et décantation. Préciser les changements de couleur observés.

Document 4 : La chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie permet la séparation et l'identification des constituants d'un mélange. Le mélange est déposé sur un support en papier Wattman ou en silice appelé phase fixe et ses constituants sont entraînés par un solvant approprié appelé phase mobile ou éluant. Cette migration s'appelle l'éluion. Plus un constituant est soluble dans l'éluant, plus il est entraîné sur une longue distance.

Pour un éluant et un support donnés, une espèce chimique migre de la même façon, qu'elle soit pure ou dans un mélange. Pour identifier une espèce chimique, on peut donc comparer sa migration à celle de l'espèce pure ou bien comparer son rapport frontal, noté R_f , à celui de l'espèce pure obtenu dans les mêmes conditions.



$$\text{Rapport frontal : } \frac{\text{distance parcourue par l'espèce chimique}}{\text{distance parcourue par l'éluant}} R_f = \frac{h}{H}$$

Document 5 : Propriétés de quelques solvants

	Eau	Ethanol	Cyclohexane
Miscibilité dans l'eau		grande	nulle
Miscibilité dans l'éthanol	grande		très faible
Miscibilité dans le cyclohexane	nulle	très faible	
Densité	1,00	0,80	0,78
Température d'ébullition (en °C)	100	78	80
Pictogrammes de sécurité			  

Document 6 : Propriétés des espèces chimiques colorées

		carotènes	xanthophylles	chlorophylle a	chlorophylle b
T° de fusion (en °C)		175-183	208-215	152	125
Rapport frontal dans les conditions de l'expérience		0,99	0,87	0,67	0,48
Solubilité dans	l'eau	insoluble	peu soluble	moyennement soluble	moyennement soluble
	le cyclohexane	soluble	soluble	très soluble	très soluble
	l'éthanol	très soluble	très soluble	soluble	soluble
	l'éther de pétrole	très soluble	très soluble	très soluble	soluble
	l'éther diéthylique	moyennement soluble	très soluble	soluble	peu soluble