

Mise en situation et recherche à mener

La plupart des plantes, comme l'épinard (*Spinacia oleracea*) de la famille des Chénopodiacées, possèdent des feuilles vertes. Cette couleur verte est due à la présence d'un pigment : la chlorophylle. La carotte cultivée qui provient de la domestication de la carotte sauvage (*Daucus carota*), est une racine de couleur orange. Cette couleur orange est due à la présence de pigments : les caroténoïdes.

Pour mieux comprendre les résultats obtenus en utilisant le rouge de crésol (voir TP précédent), on cherche à connaître et à comparer les caractéristiques de ces deux pigments.

Ressources

Photographie d'une feuille d'épinard

Echelle 1/3



Photographie d'une botte de carottes

Echelle 1/3

Matériel disponible

Matériel vivant : feuilles d'épinard, carottes orange.

Matériel courant de laboratoire (verrerie, instruments, matériel d'observation, de mesures, informatique, etc.)

Étape 1 : concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée maximale : 10 minutes)

Proposer une démarche d'investigation qui permette de savoir si le pigment orange des racines de carottes et celui des feuilles vertes d'épinard ont les mêmes caractéristiques.

Appeler le professeur pour lui restituer votre proposition et obtenir la suite du sujet.

Votre proposition sera rédigée au dos de cette feuille.

Étape 2 : mettre en oeuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Mettre en œuvre le protocole de mise en évidence de la présence de différents pigments par chromatographie pour isoler et visualiser ceux présents dans une carotte orange et une feuille verte.

Appeler le professeur pour vérifier les résultats de la chromatographie et éventuellement obtenir une aide.

Réaliser l'extraction des pigments d'une feuille verte et d'une racine orange en suivant le protocole de la fiche technique.

Appeler le professeur pour vérifier les résultats de l'extraction.

Utiliser le spectroscope et sa notice pour comparer le spectre obtenu en présence d'une solution de pigments à celui obtenu avec de l'eau distillée.

Étape 3 : présenter les résultats pour les communiquer

Sous la forme de votre choix, **présenter** les résultats obtenus pour les **communiquer**.

Répondre sur une feuille, appeler le professeur pour vérification de votre production.

Étape 4 : exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

Exploiter les résultats pour déterminer si les pigments des racines orange de carottes et des feuilles vertes d'épinard ont les mêmes caractéristiques. Si non, quelle(s) peu(ven)t en être la (ou les) conséquence(s) ?

Répondre sur une feuille.

Fiche-protocole de la chromatographie

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel biologique :

- des organes de couleur provenant de végétaux

Matériel pour chromatographie :

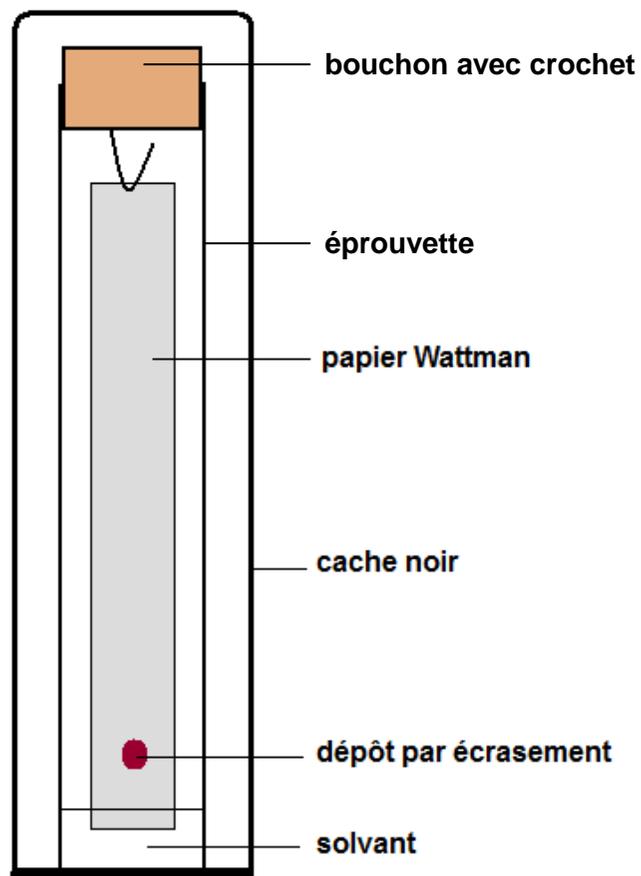
(prévu pour **deux groupes** de travail)

- 2 agitateurs,
- 2 bandes de papier Wattman,
- règle,
- crayon à papier,
- crayon à verre ou feutre effaçable,
- chronomètre,
- 2 éprouvettes(ou équivalent),
- 2 bouchons avec crochets de suspension,
- 2 caches noirs pouvant recouvrir l'éprouvette,
- du solvant à chromatographie

Principe de la chromatographie sur papier des pigments :

C'est une technique de séparation des substances présentes dans un mélange ; elle utilise la migration (ascension) d'un liquide (solvant) sur un support solide (papier...). Les constituants du mélange sont entraînés plus ou moins loin suivant leurs propriétés physico-chimiques (masse, polarité, solubilité...).

Dispositif de chromatographie :



Avertissement :

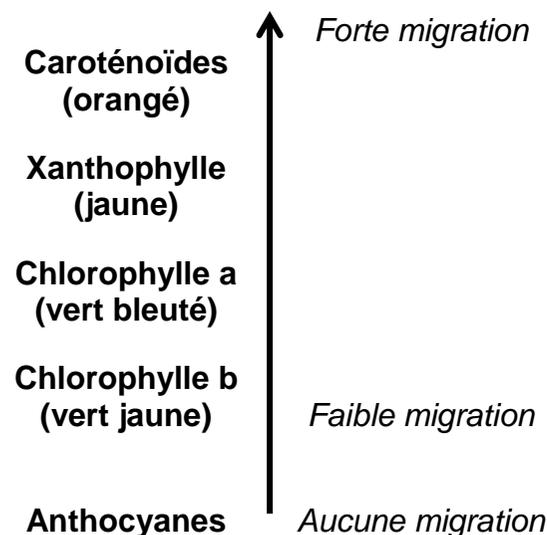
Préparer l'éprouvette 5 minutes à l'avance pour saturer son atmosphère en solvant (voir note de bas de page)

Protocole de dépôt

La tache de pigments doit être aussi petite et foncée que possible. Pour cela :

- **Ecraser** directement le matériel biologique sur le papier Wattman avec un agitateur. **Répéter** plusieurs fois l'opération pour obtenir un dépôt bien concentré.
- Durée de la migration ascensionnelle: 15 à 25 minutes, après avoir recouvert l'éprouvette d'un cache noir.

Répartition de différents pigments



Conseils pour la mise en œuvre du protocole : suspendre le papier à chromatographie à l'aide d'un croché fixé sur un bouchon, le **placer** dans l'éprouvette pour repérer le niveau du solvant à mettre (le papier doit tremper d'un demi-cm dans le solvant). **Veiller** à prendre le papier uniquement par les bords sans poser vos doigts sur la zone de migration – **Retirer** le papier, **verser** le solvant jusqu'au niveau repéré et **fermer** l'éprouvette sans le papier – **Tracer** un trait au crayon à 2 cm du bas de la bande de papier pour marquer l'emplacement du dépôt. Une fois le dépôt réalisé, suspendre le papier à chromatographie, le placer dans l'éprouvette Vérifier que les dépôts de pigments sont bien situés **au-dessus** du niveau du solvant et fermer.

Fiche-protocole de l'extraction et de l'utilisation du spectroscope

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel biologique :

- Un organe de couleur provenant d'un végétal

Matériel pour l'extraction d'une solution de pigments :(prévu pour **un groupe** de travail)

- 1 agitateur,
- 1 paire de ciseaux,
- 1 mortier,
- 1 pilon,
- du sable fin,
- 1 bécher d'alcool,
- 1 entonnoir,
- 1 support,
- du papier filtre,
- 1 bécher de 50 mL (ou un tube à essai),
- du papier aluminium pour emballer le bécher (ou le tube à essai) à l'obscurité,
- 1 flacon d'eau distillée,
- 1 spectroscope manuel muni d'un petit tube,
- des crayons de couleur.

Notice d'utilisation du spectroscope manuel :

Un spectroscope contient un prisme qui décompose la lumière blanche en un spectre de radiations colorées que l'on observe par l'oculaire de cet appareil. Si avant le prisme, on introduit un tube d'analyse contenant un peu de solution de pigments, alors on peut constater son effet sur la lumière.



← Tube d'analyse
← Prisme

Pour observer le spectre de la lumière blanche :

- **Pointer** le spectroscope vers une source lumineuse blanche (rayons solaires ou lumière artificielle) et observer par l'oculaire.

Pour observer le spectre de la solution de pigments :

- **Verser** un peu de la solution dans le tube d'analyse.
- **Placer** le tube d'analyse dans l'orifice du spectroscope prévu à cet effet.
- **Pointer** le spectroscope vers une source lumineuse blanche et observer par l'oculaire.

Avertissement :

La réalisation de cette manipulation est aisée même si vous ne l'avez jamais pratiquée. **Bien suivre le protocole.**

Protocole d'extraction

- **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement.
- **Placer** dans un mortier un peu de sable fin qui permettra un broyage efficace. Ajouter les organes coupés en petits morceaux.
- **Broyer** à l'aide du pilon. **Ajouter** progressivement 10 à 20 mL d'alcool à 90° (= solvant des pigments) et continuer à broyer jusqu'à obtention d'un liquide résiduel de couleur foncée (solution bien concentrée).
- **Filter** le contenu du mortier de façon à obtenir la solution de pigments qui doit être foncée.
- **Placer** à l'obscurité pour éviter une dégradation des pigments.

A la fin de la mise en œuvre du protocole, **ranger** le poste de travail.