

Séquence 2

CH4 Séparation et purification

Fiches liées à cette séquence :

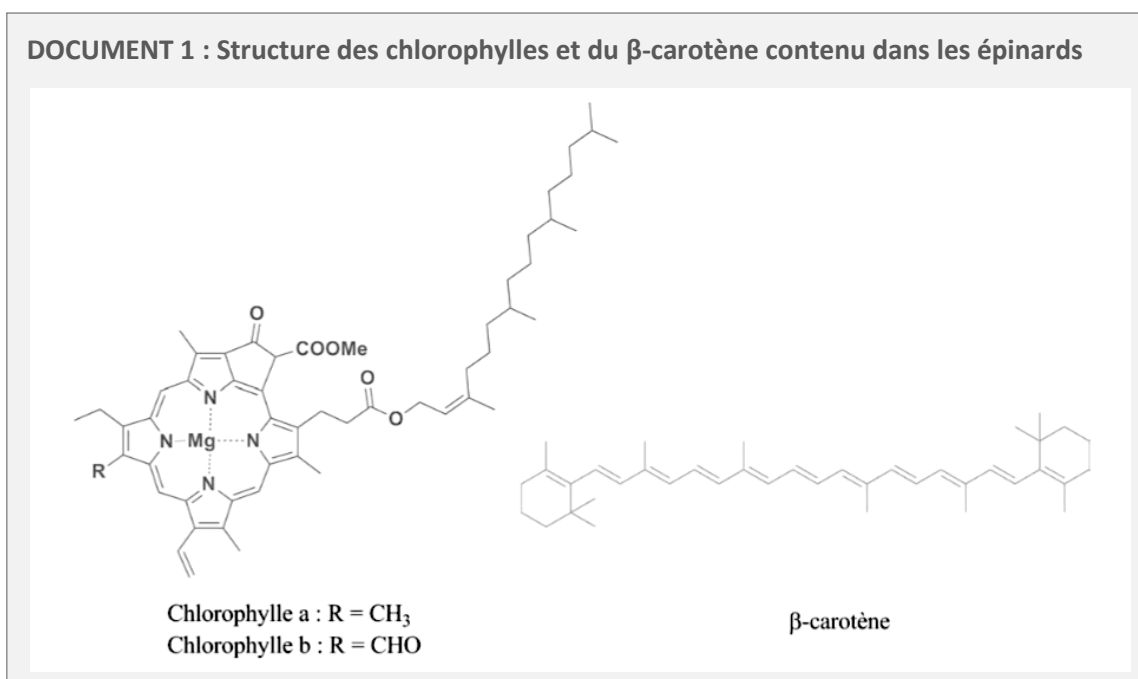
- ▶ Fiche de synthèse Séquence 2
- ▶ Fiche Chromatographie

ACTIVITÉ 2 : Séparation des pigments d'épinards

Les épinards contiennent différents pigments : la chlorophylle (a et b) et le β -carotène.

Les chlorophylles sont des intermédiaires indispensables dans le processus de la photosynthèse et le β -carotène est un anti-oxydant qui absorbe l'excès d'énergie de la chlorophylle lors de la photosynthèse.

DOCUMENT 1 : Structure des chlorophylles et du β -carotène contenu dans les épinards



I. Chromatographie sur couche mince

Avant de réaliser la chromatographie sur colonne, il convient de faire des tests en chromatographie sur couche mince pour déterminer la composition de l'éluant le plus efficace.

1. Mettre en place un travail concerté pour rechercher la composition optimale de l'éluant pour séparer les pigments des épinards. Vous disposez d'éther de pétrole et d'acétate d'éthyle. La phase stationnaire est l'alumine.

II. Chromatographie sur colonne

2. Préparer l'échantillon à éluer en chromatographie sur colonne :

- Peser 2 g d'épinards hachés dans un bécher de 50 mL.
- Ajouter 10 mL d'éthanol absolu.
- Agiter vigoureusement le milieu à l'aide d'une spatule jusqu'à ce que le mélange ne soit plus collant.
- Essorer la pâte à travers un entonnoir en verre, muni de laine, dans un bécher de 50 mL.
- Essorer la laine et la conserver avec la pulpe.
- Jeter l'éthanol extrait, qui contient de l'eau ainsi que certains sels solubles dans l'eau.
- Ajouter 10 mL de dichlorométhane à la pulpe et agiter pendant deux minutes.
- Filtrer sur un entonnoir muni d'un morceau de laine et recueillir le filtrat dans un bécher de 50 mL.
- Évaporer le dichlorométhane à l'évaporateur rotatif sous vide.

Remarque : les pigments se dégradent à la lumière, il faut donc conserver le mélange à l'abri de la lumière avec du papier aluminium si la séparation sur colonne n'est pas réalisée tout de suite.

3. Réaliser l'élution avec le mélange éther de pétrole / acétate d'éthyle choisi. Les pigments seront récupérés dans différents tubes à hémolyses.
4. Expliquer à l'aide d'un schéma le principe de la chromatographie sur colonne.

III. Analyses

5. Afin de vérifier la qualité de la séparation, réaliser une chromatographie sur couche mince des fractions éluées.
6. Justifier l'ordre d'élution des pigments.
7. Quelle(s) analyse(s) complémentaire(s) permettrait d'identifier les pigments élués.
8. La séparation par chromatographie sur colonne a-t-elle été efficace ?