

TP : Les différents pigments des végétaux et leurs propriétés vis-à-vis de la lumière

Chez les végétaux, les organes chlorophylliens réalisent la photosynthèse grâce aux propriétés d'un ensemble de molécules de couleurs différentes ou **pigments naturels**.

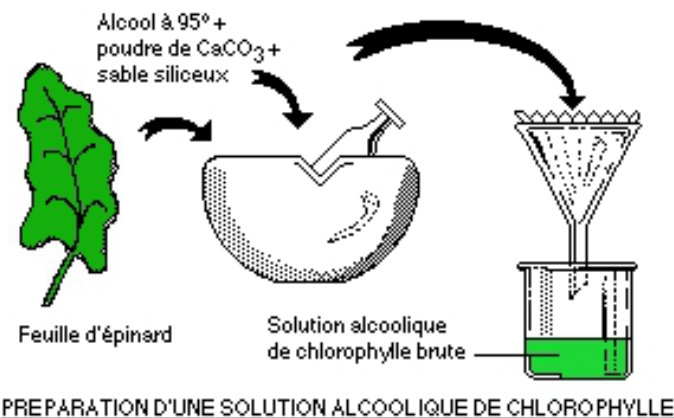
Pour étudier leurs propriétés, il faut extraire et les isoler.

Par destruction de toutes les architectures cellulaires et grâce à la solubilité dans les solvants organiques nous allons récupérer les pigments localisés dans les organites cytoplasmiques organisés : les chloroplastes.

Protocole d'extraction de pigments

- Placer dans un mortier une très petite pincée de sable de Fontainebleau, et ajouter quelques feuilles d'épinards (ou de lierre).
- Broyer dans un mortier les feuilles (préalablement coupées aux ciseaux en petits morceaux) à l'aide d'un pilon.
- Ajouter progressivement 10 à 15 mL d'éthanol jusqu'à l'obtention d'un liquide résiduel de couleur vert foncé (signe d'une solution très concentrée).
- Filtrer le contenu du mortier sans mettre le fond sableux et récupérer la solution dans un tube à essais.

Cette solution appelée « **solution alcoolique brute chlorophyllienne** » car elle renferme en fait plusieurs pigments.



CHROMATOPGRAPHIE DES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

Principe de la chromatographie

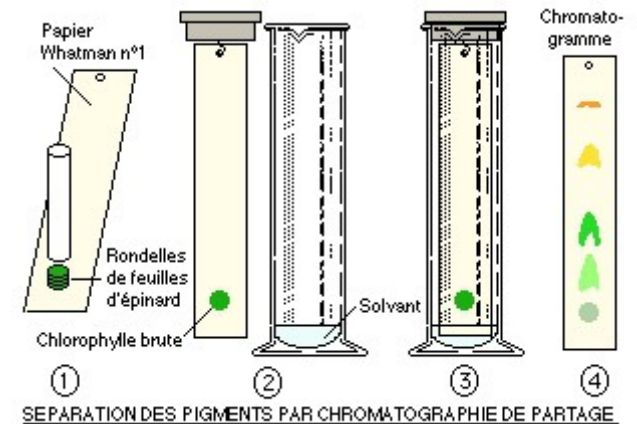
Technique de séparation des substances présentes dans un mélange ; elle utilise la migration d'un liquide (solvant : 85 % ether de pétrole, 10% acétone, 5 % toluene) sur un support solide (papier). Les constituants du mélange sont entraînés plus ou moins loin suivant leurs propriétés physico-chimiques (masse, polarité, solubilité ...). Les pigments solubles dans le solvant migrent sur le papier de chromatographie et se répartissent de la façon suivante :

Résultats attendus

Chlorophylle b (vert jaune), faible migration	chlorophylle a (vert bleuté), forte migration	xanthophylle (jaune), forte migration	caroténoïdes (orangé), forte migration
--	--	--	---

Réalisation de la chromatographie

1. **Préparer** l'éprouvette : **suspendre** le papier à chromatographie à l'aide d'un crochet fixé sur le 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 à migration.
2. **Retirer** le papier, verser le solvant jusqu'au niveau repéré et fermer l'éprouvette sans le papier.
3. **Tracer** un trait au crayon à 2 cm du bas de la bande de papier pour marquer l'emplacement du dépôt.
4. La tâche de pigments doit être aussi petite et foncée que possible. Pour cela, **écraser**, à l'aide d'un agitateur, un petit morceau de feuille à l'emplacement prévu, **répéter** l'opération 5fois, sur le même emplacement, en renouvelant le morceau de feuille.
5. **Suspendre** le papier à chromatographie, le **placer** dans l'éprouvette en vérifiant que les dépôts de pigments sont bien situés au-dessus du niveau du solvant et **fermer**.
6. **Recouvrir** l'éprouvette d'un cache noir et **laisser migrer** le solvant à l'obscurité pendant 15 minutes.



Utilisation du spectroscope

1. **Observer** dans un premier temps le spectre d'absorption en vous plaçant face à la lumière et en regardant dans l'oculaire. Le spectre doit apparaître en entier, **sinon bouger** le spectroscope en direction de la lumière.
2. **Mettre** le pigment extrait dans le petit tube à l'aide du compte-goutte.
3. **Placer** le tube dans le portoir (logement sur l'instrument) à l'opposé de l'oculaire.
4. **Observer** à nouveau le spectre. **Recommencer** avec la solution alcoolique simple (témoin).