

**"Quand les feuilles se ramassent à la pelle..."  
Ou pourquoi les feuilles changent-elles de couleur en automne ?**



Sujets principaux	Sous-thèmes	Niveau d'exigence	Niveau performance	de	Préparation
Botanique / teintures de feuilles / photosynthèse	Chromatographie	●	■ ■		15 min et 2x 45 min

L'automne est la saison où les feuilles se colorent. Cette atmosphère naturelle a un charme particulier.

Mais comment se fait-il que la forêt - avant qu'elle ne perde finalement sa splendeur - soit si colorée ? En tant que scientifique, on soupçonne déjà que ce phénomène peut provenir d'un motif biologique.

Les élèves de tous âges peuvent observer ce spectacle et s'en réjouir. A partir d'un certain âge, il leur est possible de comprendre les processus de changement de couleur, et donc leur cause, en utilisant la méthode d'analyse appropriée, à savoir la chromatographie.

Les élèves peuvent déduire de l'analyse pourquoi la couleur change justement avant que les feuilles ne tombent.

L'extraction et l'analyse chromatographique des pigments foliaires proposées ici, en ce qui concerne leur composition et leur quantité, peuvent être intégrées sous forme d'expériences élèves. Les propositions peuvent être modifiées de manière à ce que les étapes les plus complexes soient davantage dirigées par l'enseignant ou préparées par lui.

Le projet présenté propose une séquence d'expériences qui a fait ses preuves, dans un souci d'activités confiées aux élèves, dans une conception axée sur l'organisation autonome et la compétence d'action.

**Concernant le déroulement :**

Sur la base de la méthode de chromatographie en tant que possibilité de séparation de mélanges de substances, il s'agit d'analyser la composition d'un extrait (fabriqué par l'élève) de pigments colorés provenant de feuillages de couleurs différentes et de même nature.

Des groupes d'élèves sont répartis avec un objet d'étude différent (feuilles de la même plante, mais de couleur différente). Ensuite, les élèves discutent des résultats.

Les élèves apprennent par eux-mêmes comment des extraits de pigments peuvent être obtenus et comment ceux-ci passent plus ou moins rapidement la phase stationnaire de la chromatographie en raison de leurs solubilités différentes. Les élèves apprennent ainsi à connaître les propriétés des colorants et se familiarisent avec le montage expérimental de la chromatographie.

Les élèves s'exercent à observer et à évaluer les résultats en les lisant, en les transposant dans une autre forme de représentation (un tableau), en les calculant et en les comparant à des valeurs de référence. Ils acquièrent ainsi des compétences dans des méthodes de travail importantes à la démarche scientifique.

En comparant les résultats, les élèves se rendent compte qu'aucun nouveau colorant n'est formé, mais que les proportions sont simplement modifiées en faveur des pigments foliaires non verts.

Des expériences peuvent être effectuées à d'autres moments de l'année, par exemple pour comparer la teneur en pigment des feuilles claires et foncées ou avec des feuilles de couleurs différentes de plantes d'espèces différentes. Le hêtre, le chêne et l'érable présentent un jeu de couleurs différentes. Les feuilles rouges peuvent également provenir de variétés sélectionnées, par exemple le hêtre pourpre ou le noisetier.

Si les feuilles sont déjà sèches mais n'ont visiblement pas perdu leur couleur d'origine, cela peut avoir un avantage par rapport au matériel frais : une enzyme qui décompose la chlorophylle est déjà inactivée. Les pigments ne sont plus modifiés lors de l'extraction.

Les élèves sont répartis en groupes et effectuent une chromatographie sur papier.

Ils sont encouragés à spéculer sur ce qui devrait se passer : « que se passera-t-il si le papier est plongé dans l'eau dans la cuve de séparation ? »

Ils observent et expliquent le processus de séparation et la distribution différente des colorants, par ex.

La procédure est décrite en termes généraux et les termes techniques, en particulier la faible et la forte migration sont clarifiées en tant que paramètre significatif pour distinguer les substances.

## Procédés de séparation chromatographique

### Chromatographie sur papier

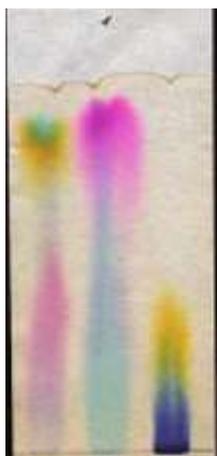
Matériel :

- Papier chromatographie ou papier filtre
- Cuve de séparation
- Feutres (noirs et de différentes couleurs, solubles dans l'eau)
- Eau distillée

Manipulation :

Sur le papier pour chromatographie de taille adaptée à la cuve, tracez une ligne uniforme et épaisse avec le feutre, pas trop près du bord (ce côté sera placé dans l'eau et ne doit pas toucher le niveau de l'eau).

Remplissez la cuve avec de l'eau et placez la bande de papier dans la cuve de manière à ce qu'elle ne touche que le fond du récipient, pas les côtés.



Activités :

1) Suivez le front liquide ascendant (ne le perdez pas de vue, il ne doit pas atteindre le bout du papier) : quel effet a-t-il sur la ligne de feutre noir une fois qu'il l'atteint ?

*L'encre du feutre se dissout dans l'eau qui monte et est entraînée.*

2) Décrivez la composition de l'encre.

*Le noir de l'encre n'est pas créé par un seul pigment noir, mais l'impression de couleur est créée par le mélange de plusieurs pigments colorés différents.*

3) Expliquez l'origine de la séparation qui permet de distinguer les pigments colorés, en utilisant les termes suivants : répartition de la matière, phase stationnaire, phase mobile, solvant, forces capillaires, transport, adsorption, séparation.

*La chromatographie sur papier est une chromatographie de partage car le principe de séparation repose sur la répartition des substances entre deux phases non miscibles. On distingue une phase stationnaire et une phase mobile.*

*La phase stationnaire est ici une phase fixe saturée de solvant (par ex. du papier), la phase mobile est un solvant. Il est préférable de parler d'éluant. La phase stationnaire est la cellulose du papier (ou la partie active de la phase stationnaire peut également être comprise comme le solvant adsorbé et donc immobile dans les pores de la cellulose).*

*La phase mobile utilisée est un solvant ou un mélange de solvants dans lequel les substances testées doivent se dissoudre. Sous l'effet des forces capillaires dans la cellulose du papier, la phase mobile migre dans le papier et se déplace ainsi sur la phase stationnaire. L'adsorption des colorants a lieu sur la fibre de cellulose. Plus un colorant est mal adsorbé sur la fibre et mieux il se dissout dans l'éluant, plus vite il est désorbé de la fibre et plus il est transporté avec la phase mobile. Cela conduit à la séparation des mélanges de colorants.*

4) Pourquoi la comparaison de la distance parcourue par l'échantillon par rapport à celle parcourue par le solvant ( $R_f$  : rapport frontal, caractérisation de la séparation chromatographique) est-il une valeur d'identification des substances ?

*Une substance dissoute parcourt une distance très spécifique avec la phase mobile, qui est déterminée par sa solubilité ou l'équilibre de la solution entre les phases mobile et stationnaire. Il s'agit de valeurs spécifiques à la substance : Le rapport de la distance de déplacement d'une substance à la distance de déplacement du solvant (phase mobile) permet de déterminer la substance (valeur  $R_f$ ).*

Variante avec un filtre rond : Au milieu d'un filtre rond, percez un trou d'environ 1 cm. Dessinez un cercle avec un feutre, directement autour de ce trou. Un deuxième papier filtre rond est enroulé en une mèche et placé dans le trou. Placez maintenant le papier filtre rond avec la mèche sur une cuve avec de l'eau. Le cercle orienté vers le haut. La mèche doit être immergée dans l'eau. La mèche attire l'eau vers le haut et la transmet au filtre rond. La séparation commence.

## Couleur de la feuille

### Examen de pigments foliaires

Il convient de tenir compte de la sensibilité des pigments de l'extrait de feuille et de la durée d'exécution de la chromatographie afin de prévoir le temps nécessaire pour réaliser cette expérience.

Nous préconisons de prévoir un temps pour revoir les termes ainsi que l'ordre logique du déroulement de la chromatographie.

Certains groupes effectuent une chromatographie avec un extrait de feuille verte, d'autres de feuille jaune, et d'autres groupes avec un extrait de feuille rouge.

Les élèves procèdent à l'extraction des pigments foliaires. Puis l'éluant (phase mobile) est préparé - cela peut aussi être fait par l'enseignant pour des raisons de temps ou de sécurité. Un mélange d'éther de pétrole et d'acétone est recommandé.

Tous les solvants se déplacent à travers les capillaires du support (papier ou plaque CCM). En raison des différentes affinités avec le support, ce mouvement, entraîné par les forces capillaires contre la force de gravité, s'effectue à des vitesses différentes.

La position finale d'un type de pigment dépend du mouvement du flux à travers les pores du support et de la solubilité du pigment dans les différents composants du flux (élution). Il en résulte un équilibre alterné multiple d'adsorption et de désorption entre la substance porteuse et le type de pigment.

Une première évaluation des performances de transfert amène à réfléchir sur les structures des pigments, l'influence des composants de la phase stationnaire et la composition de l'éluant.

Les images chromatographiques et les valeurs recueillies par les groupes sont comparées.

Il est conseillé de confier aux groupes une illustration de référence d'une chromatographie réussie, sur laquelle les bandes pigmentaires sont clairement visibles et portent leurs noms. Les élèves calculent leurs propres valeurs  $R_f$  et comparent celles-ci et la coloration avec celles des bandes sur la figure de référence.

Enfin, les résultats des groupes sont présentés et discutés.

### Lien vers des sites Web :

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Photosynth%C3%A8se>

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Pigment\\_photosynth%C3%A9tique](https://fr.wikipedia.org/wiki/Pigment_photosynth%C3%A9tique)

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie\\_sur\\_couche\\_mince](https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie_sur_couche_mince)

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Chromatographie>

<https://www.youtube.com/watch?v=BuxWqKm2-LE>

[https://www.wikidebrouillard.org/wiki/Chromatographie\\_d%27une\\_feuille\\_d%27arbre](https://www.wikidebrouillard.org/wiki/Chromatographie_d%27une_feuille_d%27arbre)

<http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/archives-2/corbeille/rerelations-de-parente/enseigner/activites-pratiques-et-classification/les-tp/tp-presence-de-chlorophylle-b-par-chromatographie>

**FICHE TRAVAUX PRATIQUES****Couleur de la feuille****Examen de pigments foliaires****Préparation d'une solution pigmentaire****Matériel nécessaire :**

Une variété de feuilles de couleurs différentes (vertes, jaunes, rouges... noter la couleur), alcool à brûler ou acétone, sable de mer / sable de quartz, carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>), éventuellement acide ascorbique (pour la conservation), balance, mortier, pilon, hotte, spatule, éprouvette gradué (100 ml), erlenmeyer, papier d'aluminium, entonnoir, papier filtre.

**Préparez un extrait de pigment à partir de chaque feuille.**

Pour cela, versez environ 5 g de feuilles découpées finement, un peu de sable et une pointe de spatule de CaCO<sub>3</sub> dans un mortier, ajoutez-y une petite quantité d'alcool à brûler ou d'acétone (20 ml), broyez vigoureusement. Si le solvant diminue trop, en ajouter un peu plus et broyez de nouveau.

Filtrez l'extrait obtenu dans un erlenmeyer entouré d'une feuille d'aluminium (l'extrait est sensible à la lumière) à l'aide d'un entonnoir et d'un filtre plissé. Ecrasez la masse de feuille avec le pilon afin d'obtenir davantage de liquide et répéter pour chaque couleur de feuille.

**Séparation chromatographique des pigments****Préambule :**

Le rapport frontal ( $R_f$ ) ou facteur de rétention est une valeur caractéristique pour chaque composé. Il est déterminé à partir de la distance parcourue par la substance divisée par la distance parcourue par le solvant.

**Matériel :**

Extraits de pigments de différentes couleurs préparés à l'étape précédente, papier de chromatographie ou plaques pour CCM (environ 4 cm x 8 cm), solvant à base d'éther de pétrole et d'acétone, chambre de séparation de chromatographie ou éprouvette graduée avec un couvercle, un tube capillaire, une pipette (10 ml).

**Manipulations :**

Appliquer des gouttes d'extrait de pigment à l'aide d'un capillaire à une hauteur de 1,5 cm au-dessus du bord inférieur du papier (ou de la plaque CCM) et à 1,5 cm des bords latéraux. Laissez les gouttes sécher et répétez ce processus jusqu'à ce qu'une ligne de couleur vive soit créée.

Versez environ 10 ml de solvant dans la chambre de séparation de manière à ce que le solvant atteigne environ 0,5 à 1 cm de hauteur. Placez ensuite la plaque de chromatographie dans la chambre de séparation et recouvrez-la.

Observez la migration de l'extrait.

Lorsque le front du solvant a presque atteint la face supérieure de la feuille, retirez-la et tracez soigneusement et finement la ligne du front du solvant avec un crayon.

**Comparez les pigments des feuilles de couleurs différentes :**

Créez un tableau :

Indiquez la distance totale de course

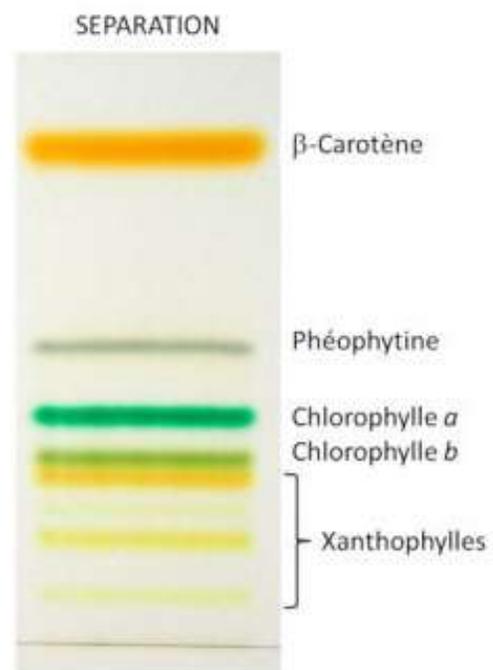
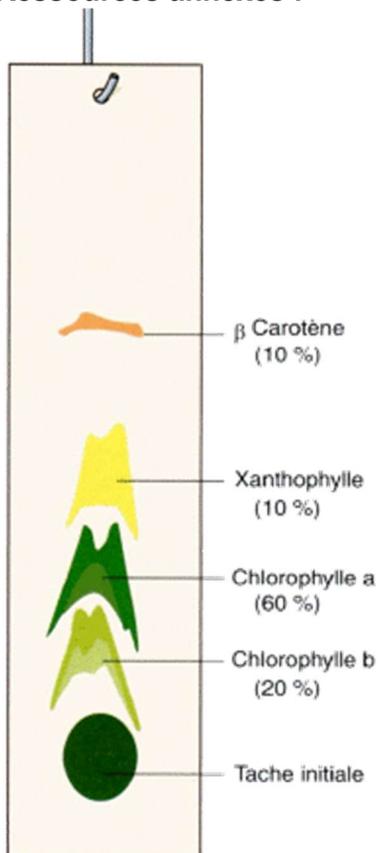
Déterminez les valeurs Rf et en les attribuant aux différents pigments

Comparez la distance parcourue par les différents pigments des feuilles de couleurs différentes.

Décrivez les différents chromatogrammes

Quelles sont les différences entre les feuilles de selon leur couleur ?

**Ressources annexes :**



Source : <https://www.encyclopedie-environnement.org/zoom/couleurs-feuilles/>

Source : [docut870\\_02\\_chromatographie\\_chlorophylle\\_brute.gif \(203x440\) \(incertae-sedis.fr\)](#)