

## Identification d'un constituant du jus de raisin

*La recherche du glucose par chromatographie permet de mettre en évidence la transformation du jus de raisin, par fermentation.*

### MATERIEL

#### Par groupe d'élèves

- cuve à chromatographie ;
- plaque de silice ;
- cuvette pour coloration ;
- sèche-cheveux ;
- 3 micropipettes ;
- corde, pinces (pour suspendre les plaques).

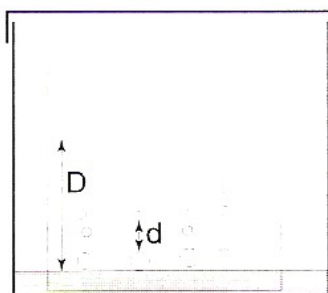
#### Produits

- solvant : méthyl-éthyl cétone 60%,  
acide acétique glacial 20%,  
méthanol 20%,  
une pincée de sulfate de sodium anhydre, en poudre ;
- colorant :  $\text{KMnO}_7$  à 20%,  
 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  anhydre à 4%,  
mélanger en volumes égaux au dernier moment ;
- solution témoin de glucose à 2% ;
- jus de raisin frais , à diluer au 1/6<sup>e</sup> ;
- jus de raisin maintenu 3 jours sans air, dilué après fermentation,
- jus de raisin maintenu 3 jours sans air, dilué après fermentation.

### RAPPEL DU PRINCIPE

Un solvant, représentant la phase mobile, migre le long d'un support (papier, gel de silice sur support aluminium ou plastique...)

Les molécules de la solution déposée sur le support sont entraînées à des vitesses différentes (fig. 1)



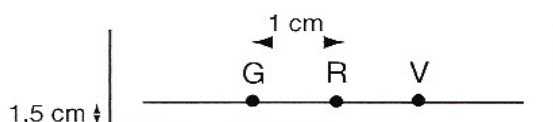
La chromatographie

Si le solvant parcourt une distance  $D$  à partir du point de départ et si une molécule parcourt, pendant le même temps, une distance  $d$ , on calcule le rapport  $R_f = d/D$  qui est caractéristique d'une substance donnée pour un solvant donné, à une température déterminée (la distance  $d$  dépend du solvant, de la température, de la masse molaire de la molécule).

L'identification des molécules, après coloration pour repérer leur emplacement, se fera grâce au  $R_f$ .

## REALISATION

- ne pas parler au-dessus des plaques ;
- ne les saisir que par les bords ;
- n'écrire qu'au crayon de papier, plutôt tendre et sans appuyer ;
- tracer à la règle un trait à 1,5 cm d'un bord, qui sera le bord inférieur ;



- faire 3 taches espacées et marquées G (glucose), R (raisin frais), V (jus de raisin maintenu 3 jours sans air) ;
- utiliser une micropipette par solution, sans les mélanger ;
- déposer à l'endroit prévu une goutte de solution avec une micropipette en position verticale ;
- deux groupes placent leur plaque dans une cuve contenant le solvant. Les plaques doivent être le plus verticales possible et les cuves doivent être refermées aussitôt.

## RESULTATS

- Arrêter la migration lorsque le front du solvant est à 1 cm du bord supérieur de la plaque (il faut compter environ 30 minutes) ;
- sécher les plaques en les suspendant sur une corde à l'aide d'une pince et en utilisant un sèche-cheveux ;
- la fin du séchage est marqué par l'absence d'odeur ;
- révéler les taches : pour cela, plonger, en un seul mouvement, les plaques dans le colorant. Les retirer au bout de 10 secondes. Egoutter et sécher de la même façon au sèche-cheveux ;
- comparer les taches obtenues pour le jus de raisin et la solution témoin.

## BIBLIOGRAPHIE

- *La chromatographie en travaux pratiques de Biologie*. CRDP - Lyon

