FICHE n°0 : LISTE DE MATERIEL DESTINEE AUX PROFESSEURS ET AU PERSONNEL DE LABORATOIRE

SUJET : Chromatographie sur couche mince et tests d'identification d'oses et osides

Pour un poste de travail

- Chromatogramme (plaque recouverte d'un gel de silice) de taille suffisante pour 4 dépôts (4 cm par 8 cm mini).
- Cuve à chromatographie adaptée au chromatogramme (bécher couvert par un verre de montre ou par une boite de Pétri …) dont l'atmosphère est saturée de vapeurs de solvant (sous la hotte).
  Le solvant (butan-2-one : 3 volumes, acide éthanoïque : 1 volume, éthanol : 1 volume) est introduit dans la cuve sur une hauteur maximale de 1 cm au moins 30 minutes avant le début de l'épreuve.
- 4 capillaires
- Solutions d'oses ou osides à 5 $g.L^{-1}$
  - ① glucose
  - ② galactose
  - ④ maltose
  - ③ glucide inconnu (galactose 5 $g.L^{-1}$)
- Feutre
- Gants et pince à épiler
- Lunettes
- 3 flacons notés A, B et C
  - A : solution d'empois d'amidon (20 mL)
  - B : solution de glucose (20 mL)
  - C : eau (20 mL)
- Portoir avec 6 tubes à essais
- 20 mL de réactif de Fehling A + B volume à volume préparé extemporanément.
- 20 mL d'eau iodée ou de Lugol (réactif iodo-ioduré).
- Pince en bois
- Bec Bunsen
- Sèche cheveux ou plaque chauffante

Pour huit postes de travail (dépannage / secours)

Prévoir un poste de travail supplémentaire.
Numéroter clairement les postes de 1 à 8.

- Les chromatoplaques doivent être réactivées au minimum 30 minutes avant le début de l'épreuve à l'étuve à 105 °C.
- Prévoir des capillaires de secours en nombre.
- Etuve à 60 °C pour le révélateur au permanganate
- Révélateur dans un cristallisoir permettant l'immersion des plaques : *deux possibilités au choix selon les pratiques retenues en formation (rayer le paragraphe inutile sur l'énoncé destiné au candidat).*
  - Mélange à volumes égaux d'une solution de permanganate à 2 % et d'une solution de carbonate de sodium à 4 %
  - Réactif de Molisch sous la hotte : 0,25 g de napht-1-ol dans 50 ml d'éthanol. Ajouter 50 mL d'acide sulfurique en solution à 20 %. Etiqueter le réactif de Molish selon les usages réglementaires (toxicité).
- Essuie-tout

Consignes particulières

- Préciser, le cas échéant, la possibilité d'utiliser les sèche-cheveux pour le séchage des dépôts.
- Une plaque en réserve développée au cas où un candidat n'obtiendrait aucun résultat (celle du test par exemple).

L'examinateur récupérera les chromatogrammes en fin d'épreuve.

FICHE n°1 : ÉNONCÉ DESTINÉ AU CANDIDAT

SUJET : chromatographie sur couche mince et tests d'identification d'oses ou d'osides

I- But de la manipulation

Dans un 1er temps, il s'agit d'identifier le constituant d'une solution inconnue de glucide par chromatographie sur couche mince et dans un 2ème temps, d'identifier des solutions d'oses ou d'osides à l'aide de tests de caractérisation.

II- Manipulation

Les deux parties sont indépendantes

1ère partie : chromatographie sur couche mince

Sous la hotte, vous disposez d'une cuve à chromatographie dont l'atmosphère est saturée de vapeurs de solvant.

- Tracer, sur la plaque à chromatographie, au crayon graphite une ligne de dépôt à environ 1,5 cm du bord (c'est à dire au dessus de la surface libre du solvant) et repérer 4 points régulièrement espacés pour les futurs dépôts.
- Inscrire au crayon graphite, votre numéro de poste en haut à droite sur le gel de silice.

!!! Appeler l'examinateur

- Effectuer à l'aide de capillaires les 4 dépôts dans l'ordre suivant :
  - ① glucose
  - ② galactose
  - ③ solution de glucide inconnu
  - ④ maltose
- Laisser sécher et renouveler l'opération 2 fois.
- Introduire la plaque dans la cuve et recouvrir la cuve.
- Laisser la migration s'effectuer jusqu'à ce que le front de solvant approche le bord supérieur de la plaque.

!!! Appeler l'examinateur lorsque la migration est terminée

- Sortir le chromatogramme.
- Faire sécher à l'air.

!!! Appeler l'examinateur avant la révélation

- Révélation en fonction des produits disponibles et des usages en cours dans l'établissement :
  - Révélateur au permanganate : tenir la plaque avec des gants et la plonger entièrement pendant 2 secondes dans le bain.
    Egoutter la plaque, la déposer sur une feuille de papier absorbant et la laisser sécher à l'air quelques minutes.
    Placer la plaque à l'étuve à 60 °C pendant 10 minutes.

OU

- Révélateur de Molisch : tenir la plaque avec des gants pour la plonger entièrement pendant 5 secondes dans le bain.
  Retirer la plaque avec des pinces et l'égoutter.
  Déposer la plaque sur une feuille de papier absorbant et la laisser sécher à l'air quelques minutes.
- Placer la plaque à l'étuve à 100 °C pendant 10 à 12 minutes.

- Entourer les spots au crayon.

A la fin de l'épreuve le chromatogramme sera remis à l'examinateur avec la Fiche n°2 complétée.

2ème partie : tests d'identification

Vous disposez de 3 flacons A, B et C contenant :

- Une solution de nature non glucidique.
- Une solution de glucose.
- Un empois d'amidon.

Réaliser sur un échantillon de chaque solution :

- Un test à la liqueur de Fehling : mélanger dans un tube à essais environ 1 mL de solution à tester et environ 2 mL de liqueur de Fehling et chauffer légèrement.

- Un test à l'eau iodée : mélanger dans un tube à essais environ 1 mL de solution à tester et environ 1 mL d'eau iodée.

Compléter le tableau **3.3** de la Fiche n° 2 au fur et à mesure des observations.

!!! Appeler l'examinateur

III- Exploitation de l'expérience

A l'aide des informations fournies sur la Fiche n°1, répondre sur la fiche N°2.

Le candidat doit restituer ce document en sortant de la salle.

FICHE n °2 : DOCUMENT RÉPONSE DU CANDIDAT

SUJET : Chromatographie sur couche mince et tests d'identification d'oses et d'osides

CANDIDAT	**N° POSTE**
NOM :	
PRENOM :	

1- PRINCIPE

1 ère partie : chromatographie sur couche mince

1.1 Identifier la phase fixe et la phase mobile (1 pt)

1.2 Préciser le rôle de la phase mobile (1 pt)

1.3 Expliquer pourquoi les glucides présentent des migrations différentes (1 pt)

2ème partie : tests d'identification

1.4 Indiquer quel type de composé est mis en évidence :

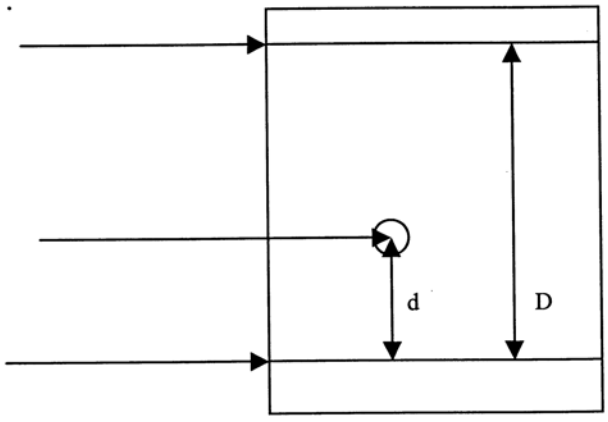
- par le test à la liqueur de Fehling (0,5 pt)

- par le test à l'eau iodée (0,5 pt)

2- MODE OPÉRATOIRE

1ère partie : Chromatographie sur couche mince

Légender le schéma suivant (1,5 pt) :



Donner la signification de d et D du schéma (0,5 pt)

3) CALCULS ET RÉSULTATS

1ère partie : Chromatographie sur couche mince

3.1. Calculer les rapports frontaux du glucose, du galactose et du maltose (1,5 pt)

3.2. Identifier, en justifiant, le constituant de la solution inconnue de glucide (0,5 pt)

2ème partie : tests d'identification

3.3. Compléter le tableau suivant en précisant si le test est positif (+) ou négatif (-)

	A	B	C
Liqueur de Fehling			
Eau iodée			

Interpréter en précisant le contenu de chaque flacon. (2 pts)

Le candidat doit restituer ce document et son chromatogramme en sortant de la salle

FICHE n °3 bis: GRILLE D'OBSERVATION DESTINÉE AUX ÉVALUATEURS

Évaluation de la partie pratique

SUJET : Chromatographie sur couche mince et tests d'identification d'oses et d'osides

PARTIE PRATIQUE : grille d' évaluation pour suivi de 4 postes		Poste 1	Poste 2	Poste 3	Poste 4
	Nom				
	Prénom				
Dépôts		1 point			
Soin apporté à la réalisation des dépôts					
Migration		2 points			
Temps de migration suffisant					
Repérage correct du front de solvant (Si le candidat ne le réalise pas, l'examinateur lui demandera de repérer le front et retirera 1 pt)					
Chromatogramme		2,5 points			
Mesures de d et D correctes : à vérifier sur le chromatogramme					
Qualité des chromatogrammes : taille des spots, absence d'empreintes digitales …					
Tests d'identification		2,5 points			
Repérage des tubes					
Soin apporté à la réalisation des tests					
Sécurité		2 points			
Respect des règles de sécurité lors de la révélation					
Chauffage des tubes : allumage du bec Bunsen, orientation des tubes					
Intervention de l'examinateur de sa propre initiative ou à la demande de l'élève (retrait de maximum 2 points) Absence de remise en état du poste (minoration de 0,5 point)					
SOUS/TOTAL PARTIE PRATIQUE		/10pts	/10pts	/10pts	/10pts

Fiche 3 : grille d'évaluation

CANDIDAT
NOM :
PRÉNOM : **Note:** **/ 20**

PARTIE ECRITE

Réponses attendues	Critères	Pts	Candidat
1. Principe **1.1** Phase fixe : gel de silice Phase mobile : éluant ou solvant	*0,25 si confusion entre phase fixe et support*	0,5 0,5	
1.2 Entraîner les constituants de chaque solution	*Mise en évidence de la notion de migration ou d'entraînement*	1	
1.3 ≠ de solubilité dans l'éluant ou ≠ d'affinité avec la phase fixe	*Présence d'une des deux explications*	1	
1.4 liqueur de Fehling : glucides réducteurs Eau iodée : amidon	*Exactitude*	0,5 0,5	
2. Mode opératoire Légendes (ligne de dépôt, front de solvant, spot …) d et D : distances parcourues par constituant et éluant	*Exactitude*	1,5 0,5	
3. Résultats **3.1** Calcul des R_f	*Exactitude*	1,5	
3.2 Identification galactose	*Exactitude*	0,5	
3.3 A B C A = amidon Fehling - + - B = glucose Eau iodée + - - C = autre	*Qualité des justifications et cohérence avec les résultats expérimentaux*	2	
	Total	10	

PARTIE PRATIQUE

Dépôts	*Soin*	1	
Migration	*Durée – Repérage du front*	2	
Chromatogramme	*Mesure d et D - Propreté - Soin*	2,5	
Tests d'identification	*Repérage des tubes – Quantité réactifs* *Soin*	2,5	
Sécurité		2	
Minoration pour aide des examinateurs (à leur initiative ou à la demande du candidat)	*Maxi 2 points*		
	Total	10	

Appréciation générale :