

Réf 03 TP01 L'énergie lumineuse est captée par les végétaux chlorophylliens

Mise en situation et recherche à mener

Les végétaux chlorophylliens sont capables d'effectuer la photosynthèse, c'est-à-dire de synthétiser leurs molécules organiques en utilisant comme source d'énergie de l'énergie lumineuse (réf.01 : rappel => toutes les synthèses biochimiques nécessitent un apport d'énergie). Cette énergie lumineuse est convertie dans les chloroplastes en énergie chimique qui permet la synthèse d'ATP.

Les végétaux ont la particularité de posséder des pigments. Chez les algues et les plantes, ces pigments sont localisés dans des organites spécialisés, les chloroplastes (revoir TP cyclose).

On cherche à montrer expérimentalement :

- ⇒ **que les plantes ou les algues, qu'elles soient vertes ou non, possèdent plusieurs types de pigments chlorophylliens**
- ⇒ **et que ces pigments ont la propriété d'absorber des radiations lumineuses.**

Ressources

Les pigments des végétaux

Les végétaux possèdent deux types de pigments photosynthétiques : les **chlorophylles** et les **caroténoïdes**. (Certaines algues possèdent en plus des phycobilines).

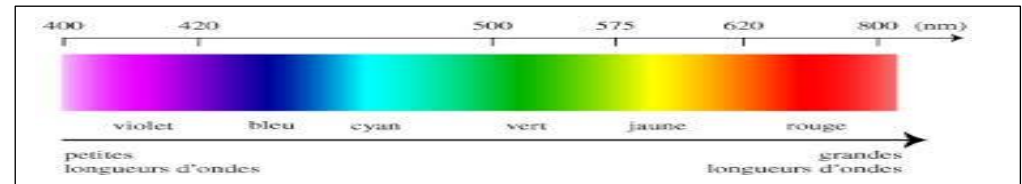
Les chlorophylles et les caroténoïdes sont solubles dans des solvants organiques (de type alcool ou acétone).

Différentes méthodes de séparation de molécules organiques

| | | |
|-----------------|--|--|
| Electrophorèse | Séparation en fonction des charges électriques et de la masse molaire | Protéines, ADN |
| Chromatographie | Séparation en fonction de la solubilité plus ou moins grande dans un solvant | Peptides, acides aminés, sucres, pigments... |
| Filtration | Séparation d'une phase solide d'une phase liquide | Différentes molécules selon la taille des pores du filtre. |

La lumière visible est constituée d'un ensemble de radiations lumineuses formant le spectre lumineux visible. Chaque radiation est caractérisée par une longueur d'onde. Le spectre de la lumière blanche s'étend d'environ 400 nm (violet) à 800 nm (rouge).

Chaque radiation est porteuse d'une certaine quantité d'énergie inversement proportionnelle à sa longueur d'onde selon la relation : $E = hc/\lambda$ (avec h = constante de Planck et c la célérité de la lumière)



Étape A Concevoir une stratégie puis mettre en œuvre un protocole pour résoudre une situation problème (durée maximale : 40 min)

⇒ Afin de montrer que les feuilles possèdent différents pigments chlorophylliens et que ces pigments permettent l'absorption des radiations lumineuses :

- **Mettre au point une stratégie** de résolution réaliste, à partir des ressources, du matériel et du protocole d'utilisation proposés ;
- **Présenter et argumenter** votre stratégie à l'oral ;
- **Préciser le matériel** dont vous avez besoin pour mettre en œuvre votre stratégie ;
- **Mettre en œuvre votre protocole expérimental** pour obtenir des résultats exploitables.

Si besoin est et à tout moment, **appeler l'examineur pour modifier à l'oral** votre stratégie et votre protocole.

Appeler l'examineur pour vérifier les résultats de la mise en œuvre du protocole.

Étape B Communiquer et exploiter les résultats pour répondre au problème (durée recommandée : 20 minutes)

Sous la forme de votre choix, **présenter et traiter** les **données obtenues** pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème

Fiche protocole – Candidat

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel biologique : feuilles vertes et rouges

Matériel pour chromatographie :

- 1 agitateur, 1 bande de papier Wattman percée d'un orifice, crayon à papier et règle, 1 éprouvette, 1 bouchon avec crochet de suspension, 1 cache noir pouvant recouvrir l'éprouvette,
- du solvant à chromatographie => sous hotte



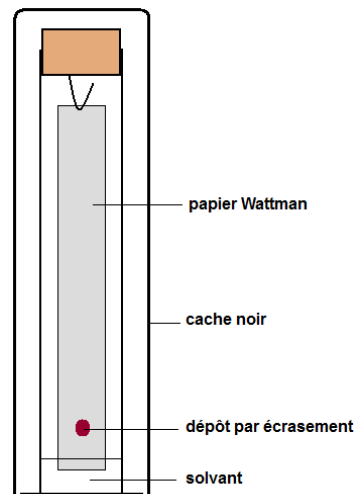
T - Toxique F - Facilement inflammable

Matériel pour extraction :

- 1 pipette de 10 mL, 1 pipeteur
- 1 mortier, sable, entonnoir et filtre.
- éthanol

Matériel pour observer les spectres :

Spectroscope à main et petite cuve à faces parallèles.



Avertissement :

- Préparer l'éprouvette 5 minutes à l'avance pour saturer son atmosphère en solvant.
- Ecraser directement le matériel biologique sur le papier Wattman. Répéter plusieurs fois l'opération.
- Durée de la migration : 20 à 30 minutes.
- Equipement de protection individuelle



Réaliser la chromatographie :

- 1- *Sous la hotte*, prendre le papier *uniquement* par les bords ou le haut pour éviter de poser les doigts sur la zone de migration (ou le saisir avec une pince). Le placer devant l'éprouvette pour repérer le niveau du solvant (le papier devra tremper d'un demi à 1 cm dans le solvant).
- 2- Tracer un trait au crayon pour marquer l'emplacement du dépôt (1 cm au-dessus du solvant).
- 3- La tache de pigments doit être *aussi petite et foncée* que possible.
Pour cela, si on procède à partir de feuilles, écraser, à l'aide d'un agitateur et de la pince fine, un petit morceau de feuille (verte ou rouge) repliée, à l'emplacement prévu sur une bande. Répéter l'opération 4 ou 5 fois, sur le même emplacement, en renouvelant le morceau de feuille. Attention, le dépôt doit être très précis.
On peut aussi déposer quelques (5 à 7) gouttes de solution de chlorophylle brute. Sécher la bande entre deux gouttes, ce qui permet un dépôt plus précis.
- 4- Suspendre le papier Whatman ; le placer dans une éprouvette en vérifiant que les dépôts de pigments sont bien situés au-dessus du niveau du solvant et fermer.
- 5- Recouvrir les éprouvettes d'un cache noir et laisser migrer le solvant à l'obscurité. Après 15 minutes, surveiller régulièrement la migration et l'arrêter avant que les pigments n'arrivent en haut du papier.
- 6- Sortir le papier. Entourer tout de suite les taches. Laisser sécher.

Réaliser l'extraction de la solution de chlorophylle brute

- 1- Broyer environ 1 feuille découpée (après avoir enlevé les nervures principales) à sec dans le mortier avec un peu de sable.
- 2- Ajouter 8 mL d'alcool et bien mélanger.
- 3- Filtrer et protéger de la lumière.

Utiliser le spectroscope

- 1- Observer dans un premier temps le spectre de la lumière blanche en vous plaçant face à la lumière et en regardant dans l'ocilleton. Le spectre doit apparaître en entier.
- 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'ocilleton.
- 4- Observer à nouveau le spectre.