

Problème : Comment mettre en évidence les pigments photosynthétiques d'une plante et leur capacité à capter la lumière ?

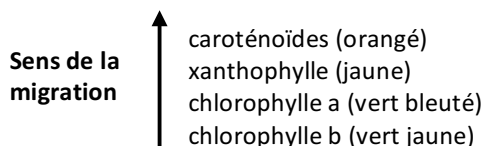
- 1) Proposez une stratégie pour répondre au problème
- 2) Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables
- 3) Présentez les résultats pour les communiquer
- 4) Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème (utilisez aussi les documents ressource)

**A. Protocole de séparation par chromatographie de pigments chloroplastiques**

La chlorophylle contenue dans les chloroplastes joue un rôle majeur dans la photosynthèse. D'autres pigments photosynthétiques sont présents dans les feuilles d'un végétal : on cherche donc à les extraire et à les séparer par chromatographie afin de les mettre en évidence.

Protocole de chromatographie

C'est une technique de séparation des substances présentes dans un mélange ; elle utilise la migration d'un liquide (solvant) 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 :

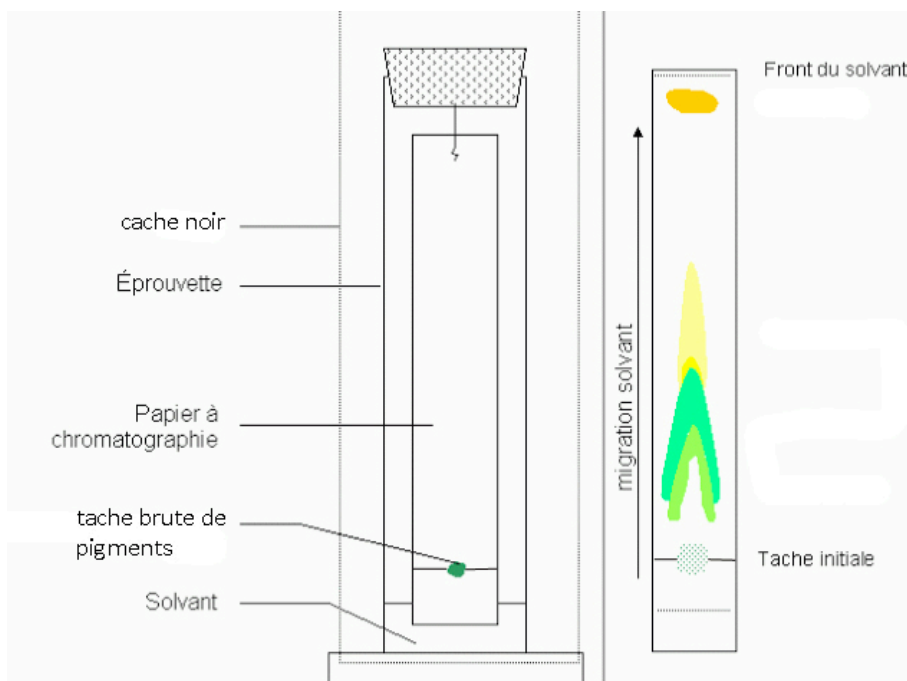


**Protocole :**

- **Couper** le papier Whatman aux dimensions de l'éprouvette. Attention, veiller à prendre le papier uniquement par les bords. Une fois suspendu, le papier ne doit pas toucher les bords de l'éprouvette.
- **Suspendre** le papier à chromatographie à l'aide du crochet fixé sur un 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, faites une marque au feutre sur l'éprouvette) Toujours **veiller** à prendre le papier uniquement par les bords sans poser vos doigts sur la zone de migration.
- **Retirer** le papier, **verser** le solvant dans l'éprouvette jusqu'au niveau repéré et **fermer** l'éprouvette sans le papier pour éviter l'évaporation.
- **Tracer** un trait au crayon à 2 cm du bas de la bande de papier pour marquer l'emplacement du dépôt.
- **Découper** puis **écraser** à l'aide du plat d'un agitateur un petit morceau de feuille à l'emplacement prévu (La tache de pigments doit être aussi petite et foncée que possible). Répéter l'opération 5 fois au même endroit en changeant de morceau de feuille.
- **Suspendre** le papier à chromatographie au crochet, le **glisser** dans l'éprouvette en vérifiant que les dépôts de pigments sont bien situés au-dessus du niveau du solvant et **fermer**.
- **Recouvrir** l'éprouvette par le cache noir et **laisser migrer** le solvant à l'obscurité pendant 25 minutes.
- Laisser sécher à l'air libre

Il peut rester sur la zone de dépôt initiale une tache rouge vif ou rouge violacé qui contient les pigments « anthocyanes » non solubles dans les solvants organiques mais solubles dans l'eau. Ceux-ci sont contenus dans les vacuoles et ne jouent pas de rôle dans la photosynthèse

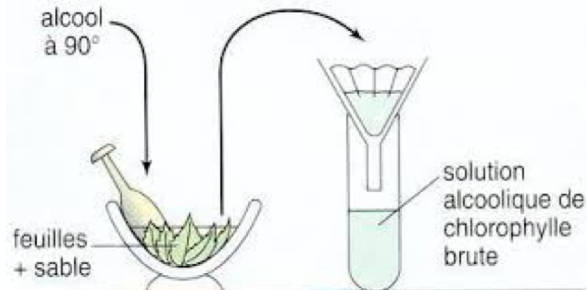
⇒ Collez et légendez votre chromatogramme.



## B. Observation au spectroscope du spectre d'absorption des différents pigments extraits

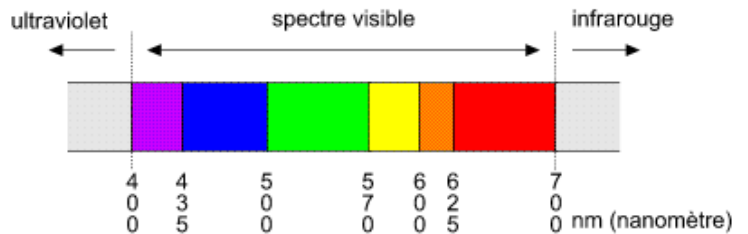
### Protocole d'extraction d'une solution brute de pigments chloroplastiques :

- **Placer** dans un mortier un peu de sable fin. **Ajouter** des feuilles coupées en petits morceaux.
- **Broyer** à l'aide du pilon. **Ajouter** progressivement environ 10 mL d'alcool à 90° et continuer à broyer jusqu'à obtention d'un liquide résiduel de couleur foncée (solution bien concentrée).
- **Filter** le contenu du mortier de façon à obtenir la solution de pigments qui doit être foncée.
- **Conserver** à l'obscurité dans un bécher la solution obtenue dite « solution brute »



Le **spectroscope manuel** permet de déterminer quelles radiations de la lumière blanche sont absorbées par la solution brute de pigments.

Un **spectroscope** contient un prisme qui décompose la lumière blanche en un spectre de radiations colorées que l'on observe par l'oculaire de cet appareil. On interpose sur le trajet d'un faisceau de lumière blanche une cuve transparente contenant une solution alcoolique brute de pigments. Les rayons qui émergent de la cuve sont ensuite dirigés sur un prisme de façon à décomposer la lumière. Lorsque la chlorophylle absorbe des radiations lumineuses, elle convertit cette énergie reçue en énergie chimique utilisable par la cellule.



**Protocole :** Verser un peu de solution brute de pigments dans le tube du **spectroscope manuel**, placer le tube dans le spectroscope, diriger ce spectroscope vers une source de lumière.

⇒ **Schématisez** les résultats obtenus.