

Thème 2 : 2.1.2. la plante productrice de matière organique
LES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

Fiche sujet – candidat (1/2)

Mise en situation et recherche à mener

Les pigments chlorophylliens absorbent une partie des ondes émises par le soleil et convertissent l'énergie photonique en énergie chimique.

Par ailleurs, ils réfléchissent les ondes comprises entre 500 et 650 nm, correspondant à des couleurs allant du rouge au vert en passant par le jaune.

On cherche à caractériser les pigments intervenant dans la photosynthèse aux printemps et en été pour les plantes caduques.

Ressources

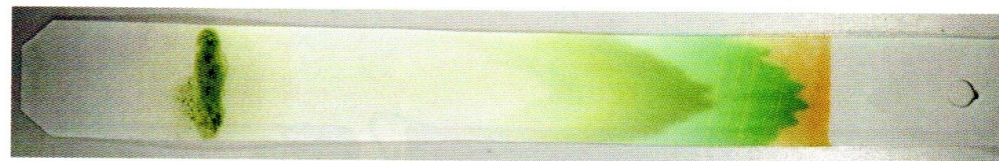
La chromatographie est une technique de séparation des substances présentes dans un mélange. Elle utilise la migration d'un solvant sur un support solide. Les constituants du mélange sont entraînés plus ou moins loin suivant leurs propriétés physico-chimiques. Les pigments solubles dans le solvant migrent sur le papier de chromatographie et se répartissent de la façon suivante :

Chlorophylle b (vert jaune) Chlorophylle a (vert bleuté) Xanthophylle (jaune) Caroténoïdes (orangé)



Principe de la chromatographie.

(Belin, Ed.2020, p.232)



Séparation par chromatographie des pigments de feuilles d'épinard.

Les feuilles sont broyées avec de l'éthanol, l'extract est filtré puis déposé sur un papier à chromatographie avant de migrer à l'obscurité. Quatre pigments différents ont été séparés selon leur masse molaire : la chlorophylle b ($907,5 \text{ g.mol}^{-1}$), la chlorophylle a ($893,5 \text{ g.mol}^{-1}$), les xanthophylles (568 et 600 g.mol^{-1}) et le carotène (552 g.mol^{-1}).

(Belin, Ed.2020, p.232)

Étape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée recommandée : 10 minutes)

Proposer une stratégie de résolution réaliste, permettant à caractériser les pigments intervenant dans la photosynthèse en automne et en été pour les plantes caduques, en réalisant des chromatographies.

Appeler l'examineur pour présenter oralement (ici par écrit) votre proposition et obtenir la suite du sujet.

Thème 2 : 2.1.2. la plante productrice de matière organique
LES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

Fiche sujet – candidat (2/2)

Étape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables

Mettre en œuvre le protocole de chromatographie, pour identifier les pigments intervenant dans la photosynthèse en été et en automne pour les plantes caduques

Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.

Étape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer

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

Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examineur pour vérification de votre production.

Étape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème

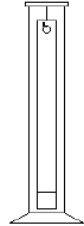
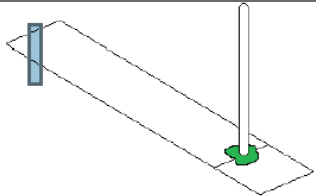
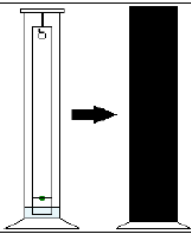
Exploiter les résultats pour déterminer les pigments intervenant dans la photosynthèse aux printemps et en été.

Répondre sur la fiche-réponse candidat.

Thème 2 : 2.1.2. la plante productrice de matière organique
LES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

Fiche-protocole 1 - candidat

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel

Matériel : - Pilon, mortier et paire de ciseaux - sable - pipette graduée - des feuilles vertes - éthanol* - filtre entonnoir et tube à essai - éluant à chromatographie* - papier à chromatographie - petites pipettes en plastique - éprouvette graduée avec bouchon et cache	Afin de déterminer les pigments chlorophylliens - Broyer les feuilles dans le mortier avec de l'éthanol - Déposer les échantillons sur le papier à chromatographie sur le même niveau - Faire migrer dans l'éprouvette avec l'éluant pendant 30 minutes. Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.	Tracez un trait au crayon à papier à 2 cm du bas de la feuille de papier Whatman et placez-la dans la cuve à chromatographie afin de repérer sa hauteur (elle ne doit pas toucher le fond de la cuve).  Sortez la feuille de papier Whatman de la cuve et ajoutez l'éluant : le papier devra tremper de 0,5 cm dans l'éluant durant la migration. <i>! Laissez la cuve fermée sous la hotte aspirante !</i>  À l'aide d'un agitateur en verre, écrasez un morceau de végétal chlorophyllien sur la feuille de papier Whatman au milieu du trait tracé précédemment. Répétez l'opération 5 à 10 fois pour bien concentrer le dépôt de pigment : la tâche devra être aussi petite et foncée que possible.  Placez la feuille de papier Whatman dans la cuve à chromatographie. <i>! Le dépôt ne doit pas être immergé dans l'éluant !</i> Placez un cache sur la cuve à chromatographie (les pigments se dégradent à la lumière). Vérifiez régulièrement l'avancée de la chromatographie, les résultats sont exploitables en 15-30 min. 
Sécurité *   	Précautions de la manipulation - volume de l'éthanol (10.mL) - déposer deux gouttes de filtrat avec la petite pipette sur le papier à chromatographie. - le papier doit toucher l'éluant, mais pas les dépôts	Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (si disponible) 

Thème 2 : 2.1.2. la plante productrice de matière organique LES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

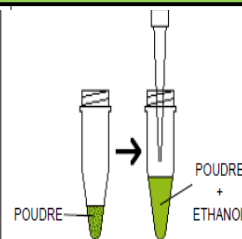
Fiche-protocole 2- candidat

Matériel :

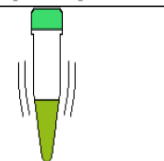
- Micropipettes 2-20 μL + embouts
- Micropipettes
- Plaques CCM (silice sur aluminium) - Cuves à chromatographie
- Bains-marie + portoirs microtubes flottants + thermomètres
- Microcentrifugeuse
- Portoir + 2 microtubes contenant échantillons
- Éthanol dénaturé à 95°
- Pipettes + propipettes ou éprouvettes graduées
- Poubelle de table

EXTRACTION DES PIGMENTS

Avec une micropipette, ajoutez 200 μL d'éthanol dans chaque microtube.

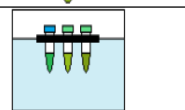


Bouchez soigneusement les microtubes et tapotez-les pour bien homogénéiser la suspension.



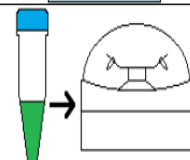
Placez les microtubes au bain-marie à 80°C pendant 3 min.

! Vérifiez la température de l'eau avant d'immerger les tubes !



Sortez les microtubes du bain-marie. Attendez 30 s qu'ils refroidissent et centrifugez-les pendant 1 min.

! Bien équilibrer la centrifugeuse (microtubes face à face) avant de démarrer la centrifugation !



CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

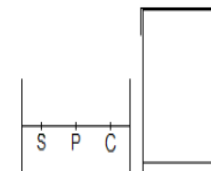
Préparez la plaque CCM :

Tracez délicatement au crayon à papier un trait à 1,5 cm du bas de la plaque et notez l'emplacement des dépôts.

Préparez la cuve à chromatographie :

Ajoutez 12 mL d'éluant dans les cuves à chromatographie et fermez-les.

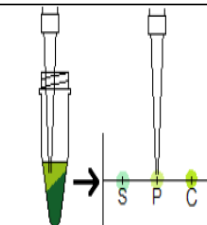
! Laissez les cuves sous la hotte aspirante !



Avec une micropipette, prélevez 3 μL de surnageant dans chaque microtube et déposez délicatement les extraits de pigments sur la plaque CCM.

! Attention de ne pas pipeter le culot !

Attendez 2 min que les dépôts de pigments séchent.



Répétez l'opération précédente 2 fois (3 fois en tout !) pour concentrer les dépôts.

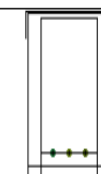
! Conserver le même embout de micropipette pour chacun des dépôts !



Une fois les dépôts secs, placez la plaque CCM dans la cuve à chromatographie.

Placez un cache sur la cuve (les pigments se dégradent à la lumière).

Attendez 10 min et sortez la plaque CCM de la cuve.



Sécurité

*



Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (si disponible)

