

TP2 DE TAB : Extraction et Dosages des pigments Chlorophylliens

Introduction

L'utilisation de la chlorophylle, un pigment naturellement coloré, dans la spectrophotométrie présente un grand intérêt. Ce pigment absorbe la lumière à des longueurs d'onde spécifiques, principalement dans le rouge et le bleu, tout en réfléchissant le vert. En recourant à un spectrophotomètre pour mesurer l'absorbance des solutions contenant de la chlorophylle, il devient possible de quantifier la concentration de ce pigment essentiel. Parmi les pigments impliqués dans la photosynthèse, on trouve les chlorophylles a et b, qui sont des molécules lipophiles capables d'absorber la lumière à des longueurs d'onde déterminées. **La chlorophylle a** absorbe fortement à 430 nm (bleu) et à 660 nm (rouge). **La chlorophylle b** absorbe fortement à 445 nm (bleu) et 645 nm (rouge).

Le carotène et **la xanthophylle** ne participent pas activement à la photosynthèse de la plante car ils ne peuvent pas libérer l'énergie accumulée. Ces pigments absorbent entre 400nm et 550nm (vert-bleu) ce qui prouve leur couleur jaune-orange.

I. But : Le but de cette expérience est de quantifier par une méthode spectrophotométrique les pigments chlorophylliens.

II. Protocole expérimental:

- a. Couper finement **3 g** de feuilles dans **un mortier** contenant une **pincée de sable**. Broyer soigneusement au pilon jusqu'à ce que l'ensemble forme une pâte. Ajouter ensuite environ **20 ml d'acétone à 95°** et continuer à broyer fortement quelques minutes, jusqu'à ce que la solution soit vert foncé. Filtrer le mélange.
- b. Introduire **1 mL d'extrait pigmentaire** (filtrat) dans une fiole jaugée de 20 mL et compléter avec de l'acétone à 95°. Fermer la fiole et agiter.
- c. Placer une cuve en verre, qui contient le solvant d'extraction, dans le faisceau et **régler le zéro de l'appareil** à 460 nm. Remplacer cette cuve par une autre qui est remplie au 2/3 par l'extrait pigmentaire dilué et lire l'absorption (A). Recommencer les opérations successivement à 645 nm et 663 nm. Régler le zéro de l'appareil pour chaque longueur d'onde utilisée.

d. Doser par spectrométrie d'absorption, **les chlorophylles a et b** ainsi que **les caroténoïdes** présents dans l'extrait. Utiliser les formules ci-dessous pour calculer **les concentrations (mg.L⁻¹)** en pigments:

$$\text{Chl a} = 12,7 A_{663} - 2,63 A_{645}$$

$$\text{Chl b} = 22,9 A_{645} - 4,68 A_{663}$$

$$\text{Ccar} = (5 A_{460} (3,19\text{Ca}) + (130,3\text{Cb})) / 200$$

e. Exprimer les résultats en mg de pigments par g de matière fraîche et conclure.