

## REACTION DE HILL

MATERIEL	EXTRACTION DES CHLOROPLASTES DES FEUILLES
<ul style="list-style-type: none"> <li>- une paire de ciseaux, un mortier préalablement placé au congélateur, sable de fontainebleau, pissette d'eau distillée, papier absorbant, un support et entonnoir, de la gaze, coton hydrophile, glace pilée, gants</li> <li>- une éprouvette de 25 ml, un compte-gouttes, une petite seringue, une pipette de 10 ml graduée, une pro-pipette,</li> <li>- microscope, lame, lamelle,</li> <li>- un petit erlenmeyer enveloppé de papier aluminium et placé dans un cristalliseur rempli de glaçons,</li> <li>- 4 à 8 feuilles de lis, épinards ou 8 à 16 feuilles de troène,</li> <li>- 50 mL de tampon phosphate saccharose à 0,5 mol.L<sup>-1</sup> à pH 6.5 (pour 100 mL de solution : 1,36 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ; 7,16 g de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ; 0,59 g de KCl ; 17,1 g de saccharose)</li> <li>- un accepteur d'électrons : du chlorure ferrique à 50g.L<sup>-1</sup> (0.5 mL) (éventuellement ferri-cyanure de potassium),</li> <li>- une chaîne de mesure ExAO avec sondes oxymétrique et photométrique, réacteur, dispositif d'éclairage, agitateur magnétique adapté, cache noir, enceinte thermostatique.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Découper</b> en fines lamelles quelques feuilles dans le mortier sortant du réfrigérateur, un peu de sable de fontainebleau.</li> <li>- <b>Ajouter</b> progressivement en cours de broyage 20 ml de solution tampon phosphate-saccharose pH= 6.5.</li> <li>- <b>Broyer</b> fermement pendant au moins 2 minutes.</li> <li>- <b>Filtrer</b> dans un entonnoir garni de gaze (3 ou 4 épaisseurs) et de coton hydrophile. La gaze permettra de presser pour obtenir le maximum de filtrat. Recueillir le filtrat dans un bêcher refroidi recouvert de papier aluminium.</li> <li>- <b>Vérifier</b> la propreté du filtrat et la présence de chloroplastes isolés en observant une goutte de suspension au microscope.</li> <li>- <b>Conserver</b> la suspension de chloroplastes ainsi obtenue à l'obscurité (erlenmeyer enveloppé de papier aluminium) et au froid (cristalliseur rempli de glaçons) jusqu'au moment de la mesure.</li> </ul>
MESURE DE L'EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN DIOXYGENE DE LA SUSPENSION	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Verser</b> la quantité adéquate de filtrat dans le réacteur selon sa capacité.</li> <li>- <b>Placer</b> de la glace pilée autour du réacteur dans l'enceinte thermostatique, laisser le passage libre si nécessaire pour la lumière.</li> <li>- <b>Introduire</b> l'agitateur magnétique.</li> <li>- <b>Positionner</b> la sonde oxymétrique et la sonde photométrique.</li> <li>- <b>Fermer</b> le réacteur et vérifier l'absence de bulle d'air.</li> <li>- <b>Mettre</b> en fonction l'agitation.</li> <li>- <b>Attendre</b> la stabilisation des mesures puis lancer l'enregistrement.</li> <li>- <b>Préparer</b> pendant l'attente, la seringue de 1 ml de ferricyanure de potassium ; enlever les bulles d'air dans la seringue.</li> <li>- <b>Enregistrer</b> pendant 10 minutes et <b>insérer</b> un repère sur le graphe à chaque modification des conditions :             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2-3 minutes à l'obscurité (volets du réacteur ou cache),</li> <li>- 5 minutes à la lumière, injecter 0,2 mL d'accepteur d'électrons après 2-3 minutes d'éclairement,</li> <li>- 2-3 minutes à l'obscurité.</li> </ul> </li> </ul>	