



# Kit réaction de Hill

## 01900042

NOTICE



Retrouvez  
l'ensemble  
de nos gammes sur :  
[www.pierron.fr](http://www.pierron.fr)

**PIERRON**  
ÉQUIPEMENT PÉDAGOGIQUE SCIENTIFIQUE

PIERRON - ASCO & CELDA • CS 80609 • 57206 SARRGUEMINES Cedex • France

Tél. : 03 87 95 14 77 • Fax : 03 87 98 45 91

E-mail : [education-france@pierron.fr](mailto:education-france@pierron.fr)

## 1 - Introduction

Ce kit permet de mettre en évidence la nécessité d'éclairer les chloroplastes et la nécessité d'avoir un accepteur d'électrons lors de la phase claire de la photosynthèse.

Pour cela, on mesure l'évolution de la concentration en dioxygène dans une suspension de chloroplastes, et ce dans différentes conditions expérimentales.

## 2 - Contenu de l'emballage

- Tampon tris saccharose : il permet l'inactivation des acides organiques attaquant les enzymes ;
- Tampon phosphate saccharose : il permet de maintenir le pH du milieu à un optimum ;
- Réactif de Hill N°1 et Réactif de Hill N°2 : l'association de ces deux réactifs constitue le réactif de Hill, contenant un accepteur d'électrons remplaçant le NaDP naturel, détruit lors du broyage.

## 3 - Matériel complémentaire

- Feuilles d'épinard ou de lis, de persil, de menthe ...
- Mortier et pilon ;
- Glace ;
- Ciseaux ;
- Gaze ;
- Verrerie diverse ;
- Cytoréacteur référence 24710.20 ;
- Source lumineuse type lampe de dissection référence 08533.20 ;
- Agitateur magnétique référence 15140.20

## Principe

Un broyat de feuilles est placé dans un cytoréacteur. On mesure les variations du taux de dioxygène dissous en oxymétrie classique ou en Ex.A.O., en présence ou en l'absence de lumière, et en présence ou non d'un accepteur d'électrons, ici, le réactif de Hill.

En l'absence d'au moins un des deux facteurs, la lumière ou l'accepteur d'électrons, il n'y a pas de production de dioxygène.

## 1 - Matériel

Pensez à préparer au préalable des glaçons.

Se procurer des feuilles très fraîches de végétaux tels que des feuilles de lis (achetées chez le fleuriste) ou des feuilles d'épinards.

Placer le mortier et le pilon quelques heures dans le bac à glace du réfrigérateur.

## 2 - Préparation du tampon tris saccharose

Verser 25 ml d'eau distillée dans le flacon noté « Tris saccharose », puis agiter vivement et placer au réfrigérateur.

## 3 - Préparation du tampon phosphate saccharose

Verser 100 ml d'eau distillée dans le flacon noté « Phosphate saccharose », puis agiter vivement et placer au réfrigérateur.

## 4 - Préparation du réactif de Hill (juste avant utilisation)

Verser 10 ml d'eau distillée dans le flacon noté « Réactif de Hill N°1 », puis verser le tout dans le flacon noté « Réactif de Hill N°2 ».

## 5 - Préparation de la suspension

- Couper les limbes de feuilles (propres) en petits morceaux au-dessus du mortier maintenu dans une cuvette à dissection avec des glaçons ;
- Verser entre 3 et 10 ml de tampon tris saccharose sur les morceaux ;
- Broyer le tout énergiquement durant environ 2 minutes ;
- Rajouter 20 à 40 ml (suivant le volume final souhaité) de tampon phosphate saccharose et continuer de broyer durant au moins une minute ;
- Verser le tout dans un entonnoir contenant de la gaze au-dessus d'un bécher/erlenmeyer froid ;
- Laisser s'écouler et presser la gaze entre les doigts ;
- Recouvrir de papier aluminium le bécher/erlenmeyer contenant le filtrat puis conserver le tout au frais.

La mesure du taux de dioxygène peut s'effectuer soit avec un oxymètre classique soit avec une chaîne d'acquisition Ex.A.O.

Dans le cas d'Ex.A.O :

- Remplir le compartiment du cytoréacteur avec l'extrait préparé.
- Le recouvrir et placer la sonde oxymétrique en veillant à ce qu'elle plonge dans la suspension de chloroplastes.
- Placer un agitateur magnétique sous le cytoréacteur (le barreau doit être placé au préalable dans l'enceinte).
- Disposer la source de lumière à proximité de l'enceinte (à 20-30 cm), en la maintenant éteinte. Placer la sonde luxmètre.

## Manipulations

Préparer une seringue contenant 0,3 ml de solution d'accepteur d'électrons (réactif de Hill).

On mesure la concentration en dioxygène en faisant varier certains facteurs :

- De  $T = 0$  à  $T = 5$  min : la suspension est placée à l'obscurité sans l'accepteur d'électrons.
- De  $T = 5$  min à  $T = 10$  min, on éclaire le dispositif.
- De  $T = 10$  min à  $T = 15$  min, la suspension est éclairée en présence de l'accepteur d'électrons suite à l'injection du réactif de Hill préalablement préparé. Attention de ne pas l'injecter trop rapidement.
- De  $T = 15$  min à la fin, la suspension est placée à l'obscurité en présence de l'accepteur d'électrons.

Lors de la phase où la suspension est placée à l'obscurité, le taux de dioxygène chute suite à la respiration cellulaire.

Lorsqu'on éclaire le dispositif, le taux de dioxygène continue de chuter. La lumière n'est pas suffisante pour amorcer la photosynthèse.

Lorsqu'on injecte l'accepteur d'électrons, on constate une remontée quasi instantanée du taux de dioxygène. Le réactif de Hill permet d'assurer la phase claire de la photosynthèse grâce à la prise en charge des électrons.

Dès qu'on plonge la suspension dans l'obscurité, même en présence de l'accepteur d'électrons, le taux de dioxygène chute brutalement.

On peut donc conclure que la production de dioxygène par la suspension de chloroplastes n'a lieu qu'à la lumière ET en présence d'un accepteur d'électrons, ici le réactif de Hill. En l'absence d'au moins un de ces deux facteurs, la production de dioxygène ne peut pas avoir lieu, ce qui démontre l'hypothèse émise par Robert Hill.

## 1 - Entretien

Aucun entretien particulier n'est nécessaire au fonctionnement de votre appareil. Toutes les opérations de maintenance ou de réparation doivent être réalisées par PIERRON - ASCO & CELDA. En cas de problème, n'hésitez pas à contacter le Service Clients.

## 2 - Garantie

Les matériels livrés par PIERRON - ASCO & CELDA sont garantis, à compter de leur livraison, contre tous défauts ou vices cachés du matériel vendu. Cette garantie est valable pour une durée de 2 ans après livraison et se limite à la réparation ou au remplacement du matériel défectueux. La garantie ne pourra être accordée en cas d'avarie résultant d'une utilisation incorrecte du matériel.

Sont exclus de cette garantie : la verrerie de laboratoire, les lampes, fusibles, tubes à vide, produits, pièces d'usure, matériel informatique et multimédia.

Certains matériels peuvent avoir une garantie inférieure à 2 ans, dans ce cas, la garantie spécifique est indiquée sur le catalogue ou document publicitaire.

Le retour de matériel sous garantie doit avoir notre accord écrit.

Vices apparents : nous ne pourrions admettre de réclamation qui ne nous serait pas parvenue dans un délai de quinze jours après livraison au maximum. À l'export, ce délai est porté à un mois.

La garantie ne s'appliquera pas lorsqu'une réparation ou intervention par une personne extérieure à notre Société aura été constatée.



