

# Astuces pour les préparations de labo

## Préparation d'une colonne chromato avec gel de silice

### TP concerné:

- chromatographie sur colonne, séparation d'un mélange en fonction de la polarité exemple séparation des pigments de la chlorophylle.

### Matériel :

-colonne chromato avec verre frité  
-gel de silice  
-éther de pétrole  
-verrerie courante

### Protocole :

Agiter le gel de silice avec l'éther de pétrole pendant minimum 1heure à température ambiante jusqu'à obtention d'une pâte lisse. Ensuite verser le gel dans la colonne de façon homogène. Laisser décanter, éliminer l'excès de phase mobile ( éther de petrole) en ouvrant le robinet mais sans la laisser sécher.

Commentaires : Couler la colonne en début de TP.

Si vous n'avez pas de colonne avec verre frité mettre au fond de la colonne du coton afin de retenir le gel.

Éluant utilisé pour la chromatographie de la chlorophylle éther de pétrole85%, acétone 10%, cyclohexane5%.)

Auteur : Anne Bonnaud ( [anne.bonnaud-violleau@educagri.fr](mailto:anne.bonnaud-violleau@educagri.fr) )

Je compte sur votre collaboration pour alimenter cette rubrique, envoyer vos astuces à :

Anne BONNAUD  
lycée bel air  
1 bd hoche  
85200 Fontenay le Comte  
[anne.bonnaud-violleau@educagri.fr](mailto:anne.bonnaud-violleau@educagri.fr)

# Astuces pour les préparations de labo

## Préparation d'une colonne chromato avec gel sephadex

### TP concerné:

- chromatographie sur colonne, séparation d'un mélange en fonction de la taille des molécules exemple séparation d'un mélange de colorants bleu dextran / vitamines B12 (rose).

### Matériel :

-colonne chromato avec verre frité  
-gel sephadex G25  
-NaCl  
-NaN<sub>3</sub>  
-H<sub>2</sub>O  
-verrerie courante

Protocole : Faire une solution de NaCl à 9‰ avec 0,2‰ d'NaN<sub>3</sub> pour éviter la contamination microbienne.

Faire gonfler 12g de gel (G25) dans 120ml de la solution de chlorure de sodium pendant minimum 3heures à température ambiante. Ensuite verser le gel dans la colonne de façon homogène. Laisser décanter, éliminer l'excès de phase mobile (NaCl+NaN<sub>3</sub>) en ouvrant le robinet mais sans la laisser sécher. Recommencer l'opération afin de remplir la colonne de gel ( car le gel se tasse en décantant). Attention à ne pas faire de cassure dans le gel.

Commentaires : Couler la colonne au minimum la veille du TP.

Le gel de sephadex peut être utilisé un grand nombre de fois (jusqu'à plusieurs années). Comme le gel finit par trop se tasser , vider la colonne, récupérer le gel et recouler la colonne.

Si vous n'avez pas de colonne avec verre frité mettre au fond de la colonne du coton afin de retenir le gel.

Auteur : Anne Bonnaud ( [anne.bonnaud-violleau@educagri.fr](mailto:anne.bonnaud-violleau@educagri.fr) )

Je compte sur votre collaboration pour alimenter cette rubrique, envoyer vos astuces à :

Anne BONNAUD  
lycée bel air  
1 bd hoche  
85200 Fontenay le Comte  
[anne.bonnaud-violleau@educagri.fr](mailto:anne.bonnaud-violleau@educagri.fr)

# Astuces pour les préparations de labo

## Préparation d'une colonne chromato avec poudre cellulose

### TP concerné:

- chromatographie sur colonne, séparation d'un mélange en fonction de la polarité exemple séparation des pigments de la chlorophylle.

### Matériel :

-colonne chromato,  
-poudre de cellulose  
-éther de pétrole  
-verrerie courante

### Protocole :

Placer un morceau de laine de verre au fond de la colonne. La remplir d'éther de pétrole.

Ajouter lentement en pluie la poudre de cellulose afin de remplir lentement, par décantation, la colonne au 2/3. Tasser la cellulose de temps en temps à l'aide d'une baguette en verre. Le niveau du liquide doit être maintenu juste au dessus du niveau de la poudre de cellulose afin d'éviter la dessiccation et la fissuration.

Placer un petit tampon de laine de verre en tête de colonne et procéder, à l'aide d'une tige en verre, au tassement de la poudre de cellulose.

Ajuster, par écoulement du liquide, le niveau de l'éther de pétrole au dessus de la poudre de cellulose.

Commentaires : Couler la colonne en début de TP.

Éluant utilisé pour la chromatographie des pigments de la chlorophylle (épinards) éther de pétrole jusqu'à séparation des carotènes de couleur jaune, ensuite éther de pétrole/ acétone de polarité croissante. 96/4 puis 94/6 et enfin 92/8

Auteur : Anne Bonnaud ( [anne.bonnaud-violleau@educagri.fr](mailto:anne.bonnaud-violleau@educagri.fr) )