

Chromatographie

Chromatography

**Ref :
591 029**

Français – p 1

English – p 5

Version : 6011

Kit Chromatographie

Chromatography Kit



1 Objectif

Ce kit de chromatographie permettra de réaliser vos chromatographies sur papier, en particulier la séparation des pigments photosynthétiques. La chromatographie sur les bandelettes de papier filtre analytique est moins coûteuse et plus reproductible qu'en CCM.

Autres applications : chromatographie des sucres, acides aminés, composés polyfonctionnels.

Rappel théorique

La chromatographie liquide-solide est basée sur la répartition des solutés entre l'adsorbant fixe et le liquide mobile. Chacun des solutés est soumis à une force de rétention (par adsorption) et une force d'entraînement par la phase mobile. L'équilibre qui en résulte aboutit à une migration différentielle des solutés de l'échantillon à analyser en fonction de leurs caractéristiques moléculaires, dimension et polarité de la molécule, ce qui permet leur séparation. L'adsorption est la fixation des molécules dissoutes par le support de la chromatographie (papier ou gel de silice). Cette fixation est due à l'établissement de liaisons chimiques faibles entre l'adsorbant et la molécule adsorbée : liaison dipôle-ion, ou dipôle-dipôle ou de Van der Waals.

2 Composition

6 cuves, 6 bouchons crochets, 1 lot de 36 bandelettes de papier filtre analytique (24 x 285 mm).

- Cuve : base stable et hauteur adaptée pour la séparation des chlorophylles, xanthophylles et caroténoïdes. Sans bec, ni graduation pour optimiser la saturation et la lisibilité.
- Bouchon : sa conception permet à la fois l'accrochage de la bande de papier à chromatographie et la saturation en vapeur de la cuve. Son rebord antichoc facilite la préhension et protège la cuve de la casse en cas de renversement, il évite aussi la dispersion du solvant qui peut être toxique.

3 Exemple d'utilisation

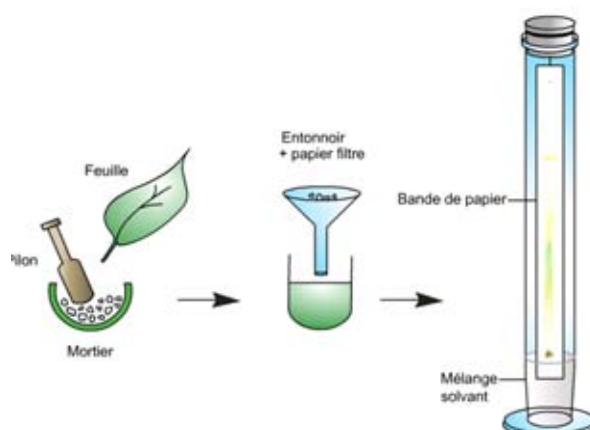
Etude des pigments chlorophylliens : séparation des pigments par chromatographie

La première chromatographie a été réalisée en 1906 par le botaniste russe M. TSWETT. Elle consistait à séparer les pigments d'une feuille d'épinard. M.Tswett avait observé la séparation des colorants végétaux constituant la chlorophylle brute, lorsqu'il filtrait leur solution dans l'éther de pétrole, sur une colonne de carbonate de calcium. Dans ces conditions, en effet, des zones colorées vertes et jaunes se forment. M. Tswett constatait : "Tout comme les rayons lumineux d'un spectre, les différentes composantes d'un mélange de colorants se déploient sur la colonne de carbonate de calcium selon une loi et peuvent être analysées qualitativement et quantitativement". Cette invention de la chromatographie par adsorption resta ignorée jusqu'en 1931; où elle fut exploitée de nouveau avec succès. Différents supports sont utilisés : papier, plaques métalliques recouvertes de gel de silice.... La localisation des pigments est différente selon le type de support, papier ou gel de silice.

3.1 Mode opératoire

3.1.1 Extraction des pigments foliaires :

- Découper finement 5 feuilles de lierre, saines et propres, dans un mortier contenant 1 pincée de sable et 20 mL d'éthanol dénaturé.
- Broyer à l'aide du pilon jusqu'à obtention d'un liquide vert dense,
- Filtrer le liquide obtenu, on récupère ainsi une solution alcoolique de pigment foliaire.



3.1.2 Préparation du solvant :

Pour 100 mL de solvant : mélanger : 85 mL d'éther de pétrole, 10 mL d'acétone, et 5 mL de cyclohexane

3.1.3 Séparation des pigments par chromatographie :

Préparation de la cuve à chromatographie :

Verser sur 1 cm de hauteur le solvant d'extraction dans la cuve à chromatographie puis boucher celle-ci afin de la saturer en vapeur de solvant.

Préparation du support :

- Tracer un trait fin au crayon à papier à 2 cm d'une extrémité de la bandelette.
- Déposer au centre du trait 6 à 10 gouttes de solution alcoolique de pigments, veiller à déposer des gouttes fines et laisser sécher entre le dépôt de chaque goutte. La trace finale ne doit pas excéder un diamètre de 8 mm ①.
- Suspendre délicatement la bandelette au crochet du bouchon de la cuve.
- Introduire le bandelette dans la cuve (le solvant ne doit pas recouvrir le dépôt).
- Laisser migrer et attendre que le front du solvant soit à 10 mm de la partie supérieure de la bande de papier à chromatographie ③.
- Arrêter la manipulation, sortir la bande de papier de l'éprouvette et sécher.

Remarque : les supports livrés avec les cuves du kit chromatographie offrent la possibilité de faire 2 dépôts sur la même bande, ce qui permet une comparaison éventuelle.



①



②



③

3.2 Résultats attendus

On met ainsi en évidence 4 sortes de pigments : Dans l'ordre les chlorophylles b et a, les xanthophylles et les carotènes ③.

3.3 Variations

Cette manipulation peut être réalisée avec d'autres matériels biologiques tels que : épinards, blettes, algues, euglènes et cyanobactéries, végétal possédant des feuilles vert franc.

3.4 Trucs et astuces

- Bien sécher les dépôts.
- Une fois le dépôt réalisé, placer assez rapidement la bandelette dans la cuve.
- Réaliser de préférence la migration à l'obscurité, les pigments étant photosensibles.
- Utiliser les précautions nécessaires pour la manipulation des solvants (masques, gants, hottes etc...).

Compléments	
Produits chimiques pour solvant	
Ether de pétrole 900 mL	Réf. 102 008
Acétone (propanone) 1000 mL	Réf. 102 021
Cyclohexane 1L	Réf. 102 060
Papier filtre analytique	
Bandelettes 24 x 285 mm. Lot de 36	Réf. 703 077
Feuilles entières 250 x 285 mm. Lot de 25	Réf. 703 076
Liquipettes Elkay®	
En PE à spatule. L : 130 mm, Vol : 0,5 mL, 40 gouttes par mL, Vol 1 goutte : 25 µL.	
Pointes fines. Lot de 25.	Réf. 723 042

4 Service après vente

La garantie est de 2 ans, le matériel doit être retourné dans nos ateliers.
Pour toutes réparations, réglages ou pièces détachées, veuillez contacter :

JEULIN - SUPPORT TECHNIQUE
Rue Jacques Monod
BP 1900
27 019 EVREUX CEDEX FRANCE
+33 (0)2 32 29 40 50



1 Purpose

This chromatography kit enables you to perform chromatographies on paper, in particular the separation of photosynthetic pigments. Chromatography on analytic filter paper strips is less costly and easier to reproduce than on TLC.

Other applications: chromatography of sugars, amino acids, polyfunctional compounds.

Summary of the theory

Liquid-solid chromatography is based on the separation of solutes between the stationary adsorbant and the mobile liquid. Each solute is subject to a retention force (by adsorption) and a transport force by the mobile phase. The equilibrium between these two forces results in a differential migration of the solutes in the sample being analyzed in relation to their molecular characteristics, the size and polarity of the molecule, which causes them to separate. Adsorption is the fixation of the dissolved molecules by the chromatography support (paper or silica gel). This fixation results from the establishment of weak chemical bonds; e.g., dipolar ionic, dipolar-dipolar, or Van der Waals bonds, between the adsorbant and the molecule adsorbed.

2 Contents

6 vessels, 6 stoppers with hooks, 1 set of 36 strips of analytic filter paper (24 x 285 mm).

- Vessel: Stable base and height suitable for the separation of chlorophylls, xanthophylls and carotenoids. Without a spout, and ungraduated to optimize saturation and readability.
- Stopper: The design of the stopper makes it possible to fasten the chromatography paper and saturate the vessel with vapors. Its antishock rim makes it easier to grip and protects the vessel from breaking in the event of a spill, and it also prevents the dispersion of the solvent, which is potentially toxic.

3 Examples of applications

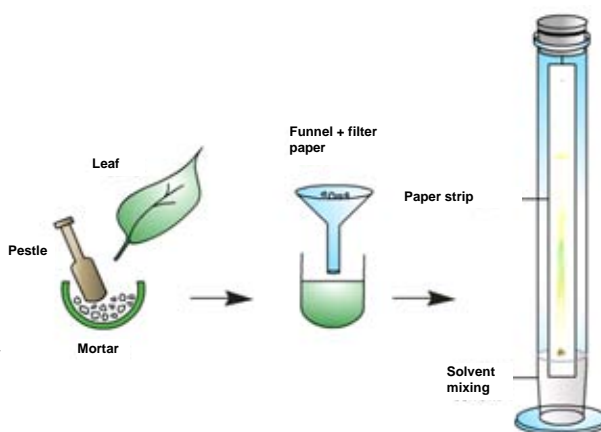
The study of chlorophyll pigments: separation of the pigments by chromatography

The first chromatography was conducted in 1906 by the Russian botanist M. TSWETT. He used it to separate the pigments in a spinach leaf. M. Tswett observed the separation of the plant pigments composing whole chlorophyll when he filtered a chlorophyll solution in petroleum ether on a calcium carbonate column. This resulted in the formation of green and yellow colored zones. M. Tswett concluded: "Exactly like the light rays in the spectrum, the different components of a mixture of pigments separate out on the calcium carbonate column according to a law and they can be analyzed qualitatively and quantitatively." This invention of chromatography remained unknown until 1931, when it was successfully used again. Different supports are used: paper, metal plates coated with silica gel, etc. The location of the pigments is different for each type of support, paper or silica gel.

3.1 Instructions

3.1.1 Extraction of foliar pigments:

- Finely cut 5 healthy, clean ivy leaves in a mortar containing a pinch of sand and 20 ml of denatured ethanol.
- Mash with a pestle until a thick, green liquid is obtained,
- Filter the liquid thus obtained to recover an alcoholic solution of foliar pigments.



3.1.2 Preparation of the solvent:

To make 100 ml of solvent, mix 85 ml of petroleum ether, 10 ml of acetone, and 5 ml of cyclohexane.

3.1.3 Separation of the pigments by chromatography:

Preparation of the chromatography vessel:

Add extraction solvent to the chromatography vessel to a depth of 1 cm, then stopper the vessel to saturate it with the solvent vapor.

Preparation of the support:

- Draw a thin line in pencil 2 cm from one end of the strip.
- In the center of the line, deposit 6 to 10 drops of the alcoholic pigment solution, be sure to deposit small drops and let each drop dry before depositing the next one. The diameter of the final deposit must not exceed 8 mm ①.
- Carefully hang the strip on the hook on the vessel stopper.
- Introduce the strip into the vessel (the solvent must not cover the deposit).
- Let the solvent migrate and wait until the level of the solvent is within 10 mm of the upper end of the chromatography paper strip ③.
- Stop the process, remove the paper strip from the vessel and let it dry.

Note: The supports supplied with the chromatography kit vessels provide space to make two deposits on the same strip so that they can be compared.



①



②



③

3.2 Expected results:

This process will reveal four types of pigments in the following order: chlorophylls b and a, xanthophylls and carotenes ③.

3.3 Variations

This technique may be used for other biological materials such as: spinach, chard, algae, euglenophyta and cyanobacteria (blue-green algae), any plant with green leaves.

3.4 Tricks and tips

- Let the deposits dry well.
- Once the deposit is made, put the strip in the vessel quickly.
- Ideally, let the migration take place in a **dark place**, as the pigments are photosensitive.
- Take the proper precautions when handling solvents (masks, gloves, fume hoods, etc.).

Accessories	
Chemical products for the solvent	
Petroleum ether 900 ml	Ident. no. 102 008
Acetone (propanone) 1000 ml	Ident. no. 102 021
Cyclohexane 1L	Ident. no. 102 060
Analytic filter paper	
Strips 24 x 285 mm. Set of 36	Ident. no. 703 077
Whole sheets 250 x 285 mm. Set of 25	Ident. no. 703 076
Elkay® liquipettes	
Polyethylene spatula. L: 130 mm, Vol : 0.5 ml, 40 drops per ml, Vol. 1 drop: 25 µl.	Ident. no. 723 042
Fine tips. Set of 25.	

4 After-Sales Service

This material is under a two year warranty and should be returned to our stores in the event of any defects.

For any repairs, adjustments or spare parts, please contact:

JEULIN - TECHNICAL SUPPORT
Rue Jacques Monod
BP 1900
27 019 EVREUX CEDEX FRANCE
+33 (0)2 32 29 40 50

Assistance technique en direct

Une équipe d'experts
à votre disposition du Lundi
au Vendredi (8h30 à 17h30)

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge immédiatement votre appel pour vous apporter une réponse adaptée à votre domaine d'expérimentation : Sciences de la Vie et de la Terre, Physique, Chimie, Technologie .

Service gratuit * :
+ 33 (0)2 32 29 40 50

** Hors coût d'appel*

Aide en ligne :
www.jeulin.fr

Rubrique FAQ

Direct connection for technical support

A team of experts at your disposal from Monday to Friday (opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request immediatly to provide you with the right answers regarding your activity field : Biology, Physics, Chemistry, Technology .

Free service * :
+ 33 (0)2 32 29 40 50

** Call cost not included*



Rue Jacques-Monod,
Z.I. n° 1, Netreville,
BP 1900, 27019 Evreux cedex,
France

Tél. :  + 33 (0) 2 32 29 40 00
Fax :  + 33 (0) 2 32 29 43 99
Internet : www.jeulin.fr - support@jeulin.fr

Phone : + 33 (0) 2 32 29 40 49
Fax :  + 33 (0) 2 32 29 43 05
Internet : www.jeulin.com - export@jeulin.fr

SA capital 3 233 762 € - Siren R.C.S. B 387 901 044 - Siret 387 901 04400017

