

Extraction et séparation de la chlorophylle

Rapport de stage de Floriane Cere, Aude Burgat et Paul Scotto BTS Anabiotech Auzeville mars 2014

I. Etude bibliographique

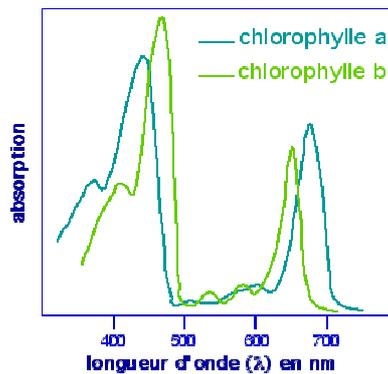
1.1. Les pigments de la plante

1) Chlorophylle

La chlorophylle, de part sa couleur verte, est le principal pigment contenu dans les plantes. Elle se trouve dans les chloroplastes des cellules végétales. Elle est indispensable pour l'activité photosynthétique de la plante qui consiste à produire de l'énergie chimique (ATP) à partir de l'énergie lumineuse du soleil. En effet la lumière du soleil est captée par la chlorophylle.

On distingue plusieurs formes de chlorophylles (a, b, c, d et f) qui n'ont pas la même structure chimique. Les plus courantes sont les chlorophylles A et B que l'on retrouve chez les plantes supérieures et chez les algues.

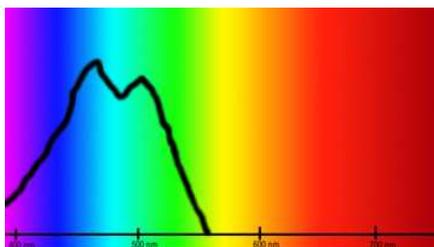
Pour ce qui est du spectre d'absorption, on observe un pic d'absorption de la chlorophylle A à 430 nm (bleu) et à 660 nm (rouge). La chlorophylle b absorbe fortement à 445 nm (bleu) et 645 nm (rouge)



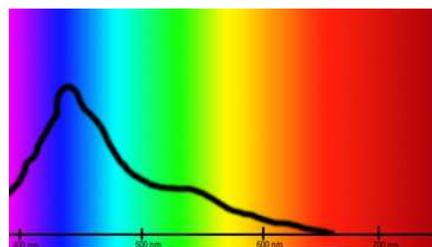
Spectres d'absorption des chlorophylles a et b

2) Autres pigments

Chez la plante, on peut distinguer d'autres pigments : le carotène qui est orange et la xanthophylle qui est jaune. Ils ne participent pas activement à la photosynthèse de la plante car ils ne peuvent pas libérer l'énergie accumulée.



Spectre d'absorption de la xanthophylle



Spectre d'absorption du carotène

On voit que les deux pigments absorbent entre 400nm et 550nm (vert-bleu) ce qui prouve leur couleur jaune-orange.

II. Matériels et méthodes

2.1. Extraction de la chlorophylle

1) Principe

L'extraction de la chlorophylle des végétaux permet d'obtenir une solution chlorophyllienne qui va servir à réaliser la suite des manipulations du protocole. Les feuilles de la plante sont mises en contact avec de l'éthanol absolu qui va les léser mécaniquement et va détruire les membranes des cellules dans le but d'en extraire les organites (les lipides et les lipoprotéines sont solubles dans l'éthanol). Le broyat ainsi obtenu est filtré et la chlorophylle est extraite grâce au dichlorométhane, solvant d'extraction. Après une seconde filtration, le filtrat est chauffé afin de garder uniquement les pigments de la chlorophylle.

2) Protocole

- Peser 10g de feuilles d'épinard dans un bécher et les hacher grossièrement à l'aide d'une paire de ciseaux. Placer les feuilles hachées dans un mortier, et les broyer avec du sable de fontainebleaux et 10ml d'éthanol absolu.
- Filtrer le broyat dans un Erlenmeyer à l'aide d'un coton cardé.
- Récupérer la pulpe dans le coton cardé et la placer dans un bécher. Ajouter 12ml de dichlorométhane et agiter pendant deux minutes.
- Filtrer à nouveau le mélange de la même manière que précédemment et récupérer le filtrat.
- Séparer le filtrat en deux : l'un servira à la CCM.
- Faire évaporer l'autre filtrat dans un bain marie à 95°C. Il servira à la chromatographie de partage sur colonne.

On obtient de la chlorophylle pure collée au fond de l'Erlenmeyer.

- Resolubiliser la chlorophylle dans quelques millilitres de solvant apolaire/solvant polaire 9:1.



Pigments collés au fond de l'Erlenmeyer

2.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

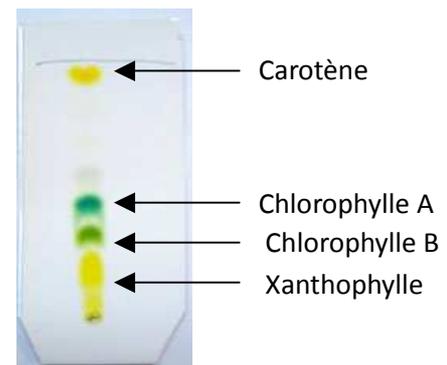
1) Principe

La chromatographie sur couche mince permet une séparation des pigments dans un but d'analyse.

La phase fixe est composée d'une couche solide sur laquelle est déposé un gel de silice servant de support et la phase liquide est constituée d'un éluant qui sépare les différents pigments.

Plusieurs gouttes de solution de chlorophylle sont déposées sur la phase fixe à l'aide d'un capillaire pour former une tâche. La plaque de silice est mise en contact avec la phase liquide qui va migrer et entraîner les pigments de la chlorophylle par capillarité.

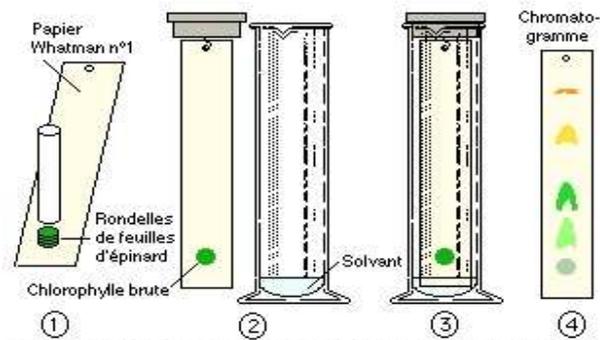
Une fois que la migration est terminée, on obtient plusieurs tâches colorées sur la plaque de silice correspondantes aux différents composants de la chlorophylle.



CCM après migration des pigments

2) Protocole

- Découper une bande de plaque de silice d'environ 15 cm de long et 2 cm de large.
- Tracer une croix à 1 cm du fond de la bande, ceci est le repère pour placer la tâche de chlorophylle.
- Déposer une goutte de chlorophylle extraite sur la croix et attendre que ça sèche. Répéter cette opération 6 fois afin que la tâche verte soit bien visible.
- Préparer 10ml d'éluant avec 40% de solvant apolaire (éther de pétrole) et 60% de solvant polaire (éther diéthylique). Verser dans une éprouvette graduée de 100ml.
- Mettre la bande de plaque de silice et la faire tremper dans l'éluant sans toucher la tâche.
- Couvrir l'éprouvette et la mettre à l'obscurité.
- Faire migrer pendant 1 heure.



Protocole général de CCM pour la séparation des pigments chlorophylliens

2.3. Chromatographie de partage sur colonne

1) Principe

La chromatographie de partage consiste en une répartition différentielle de deux solvants qui constituent une phase mobile et une phase stationnaire. Cette dernière est obtenue par greffage du premier solvant sur un support solide à l'intérieur de la colonne. La solution de chlorophylle extraite est déposée sur cette colonne. La phase mobile (éluant) permet de séparer les pigments de la chlorophylle par affinité. Le carotène étant le plus apolaire, il est élué grâce à un éluant constitué de 90% de solvant apolaire et de 10% de solvant polaire.

Suivant la polarité du pigment on change d'éluant pour obtenir la meilleure affinité. Ainsi on recueille les différents constituants de la chlorophylle par fractionnement. On obtient donc plusieurs couleurs suivant les pigments chlorophylliens.

Grâce à la couleur des pigments, cette méthode qualitative permet un suivi visuel de leur migration.

2) Protocole

On réalise préalablement une colonne de gel de silice qui servira de support à la phase fixe liquide.

- Préparer 100ml d'éluant solvant apolaire/solvant polaire 9:1
- Placer du coton cardé au fond d'une burette de 25ml. Recouvrir le coton de 0,5 cm de sable de Fontainebleaux et déposer quelques millilitres d'éluant afin de chasser l'air enfermé dans le coton.
- Dans un bécher, peser 12g de silice sèche d'une granulométrie comprise entre 0,063 et 0,200mm et ajouter 25ml d'éluant. Agiter afin d'obtenir un gel.
Verser ce gel dans la burette et rajouter de l'éluant si le gel se solidifie.
« Tapoter » légèrement la colonne à l'aide d'un objet en caoutchouc afin de chasser les éventuelles bulles d'airs et de tasser la colonne.
- Déposer une seconde couche de 0,5cm d'épaisseur de sable de Fontainebleaux afin de garder le haut de la colonne de silice toujours plat lors des dépôts d'échantillon et d'éluant. Une fois que la colonne est tassée, jeter le surplus d'éluant de la colonne afin que son niveau arrive au ras du sable.

A partir de maintenant, il faut travailler à l'obscurité pour éviter l'oxydation de la chlorophylle.

- Déposer l'échantillon de chlorophylle extraite au-dessus de la colonne et ouvrir celle-ci pour que les pigments s'imprègnent dans le sable.
- Commencer l'élution avec le reste d'éluant, solvant apolaire/solvant polaire 9:1, préparé précédemment.
- Le carotène est le premier pigment à être élué. Continuer l'élution avec le même éluant jusqu'à ce que le carotène sorte de la colonne et qu'il soit récupéré dans la première fraction.
- Changer ensuite les proportions de solvant dans l'éluant afin de séparer maintenant la chlorophylle A et B. Préparer 50ml d'éluant dans les proportions solvant apolaire/solvant polaire 1:1 et éluer les deux pigments chlorophylliens suivants.
- Continuer l'élution jusqu'à récupération de la deuxième fraction contenant la chlorophylle A (bleu-vert) et de la troisième fraction contenant la chlorophylle B (vert-jaune).
- Le dernier pigment est la xanthophylle. Afin de le récupérer on change une nouvelle fois les proportions de solvant dans l'éluant : solvant apolaire/solvant polaire 1:9. Continuer l'élution jusqu'à récupération de la quatrième fraction.

Le suivi de l'élution de chaque pigment chlorophyllien se fait visuellement en suivant la séparation de chaque couleur lors des différentes éluations.

III. Résultats et discussion

3.1. Extraction de la chlorophylle

Nous avons réalisé plusieurs méthodes d'extraction de la chlorophylle afin de les comparer et d'obtenir les meilleurs résultats. Nous avons pu comparer les résultats d'extraction grâce aux méthodes de chromatographie que nous avons mis en place.

Type d'extraction	Résultats	
Extraction par l'éthanol absolu	C'est la méthode la plus simple et la plus rapide à réaliser car elle ne nécessite que d'une seule étape d'extraction. Cependant, lors de la réalisation de la CCM, malgré une tâche de solution chlorophyllienne importante, les pigments sont peu intenses. L'identification des différents pigments est donc difficile.	
Extraction par l'éthanol et le dichlorométhane	Cette méthode rejoint la méthode précédente car ont fait une nouvelle filtration avec du dichlorométhane en utilisant la pulpe du broyat précédent. Cette étape supplémentaire permet d'obtenir une chlorophylle plus concentrée, donc la lecture sur la CCM est plus précise et les résultats sont plus concluants.	
Extraction par l'éther diéthylique	Nous observons une solution chlorophyllienne moins intense qu'avec une double filtration du broyat d'épinard. De plus, en utilisant seulement une filtration du broyat mélangé avec l'éther diéthylique, les pigments de la chlorophylle ne sont pas très bien séparés sur la CCM et leur couleur est très claire. Ce qui rend donc la lecture difficile.	
Extraction par l'éther diéthylique et le dichlorométhane	Avec l'ajout de la deuxième filtration on obtient une séparation plus nette des composants de la chlorophylle et une couleur plus intense sur la CCM qui est donc bien plus lisible.	
Extraction en changeant le moyen de filtration	Nous avons aussi changé le moyen de filtration pour vérifier l'incidence de la manière de filtrer sur la qualité de la séparation des pigments.	
	Verre fritté	Le broyat ayant une taille supérieure aux pores du verre fritté, ce dernier se bouche donc on ne peut pas filtrer.
	Papier filtre	Le broyat qui est très épais et lourd troue le papier filtre. On ne peut donc pas filtrer.
Coton cardé ou gaze	Cette méthode de filtration laisse passer le filtrat recueilli tout en retenant la pulpe. Ceci permet d'obtenir un filtrat sans pulpe pour pouvoir passer à la suite de la manipulation.	

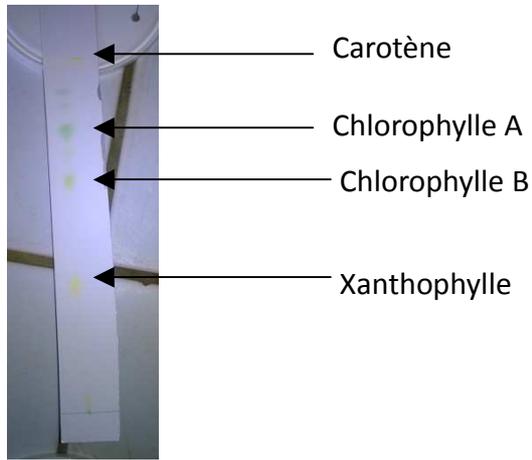
Au vu des résultats trouvés, nous pensons que la meilleure solution est l'extraction de la chlorophylle par la méthode à l'éthanol et par la deuxième filtration au dichlorométhane.

En effet, l'éther diéthylique est un produit beaucoup plus dangereux à manipuler que l'éthanol absolu donc nous évitons de retenir la méthode d'extraction à l'éther diéthylique et au dichlorométhane. De plus, les résultats obtenus avec une première filtration du broyat mélangé à l'éthanol sont satisfaisants et permettent des chromatographies efficaces. On utilise donc ce protocole.

3.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Type de CCM	Résultats
CCM sur papier filtre	Le solvant qui sert à la migration des pigments s'imprègne sur tout le papier filtre ce qui provoque l'illisibilité de la séparation des pigments. Cette méthode n'est pas efficace.
CCM sur plaque de silice	On distingue bien les différents pigments de la chlorophylle. La migration se fait de manière lisible et nette. Cependant, la qualité de la séparation des pigments varie en fonction de la longueur de la plaque. Plus celle-ci est longue, plus les pigments chlorophylliens se séparent bien.

Après plusieurs essais, nous avons convenu que le meilleur résultat s'obtenait avec une plaque de silice de 15 cm.



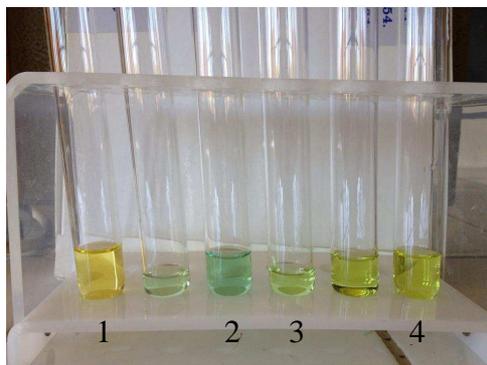
Séparation des pigments chlorophylliens en suivant notre protocole

3.3. Chromatographie de partage sur colonne

1) Choix de la phase mobile

Afin d'éluer de façon différentielle les pigments de la chlorophylle nous avons choisi différents éluants en fonction de leur affinité avec ces pigments. Nous avons réalisé différents mélanges de solvants polaires et apolaires en faisant varier les proportions afin de déterminer l'éluant permettant la meilleure séparation.

Phase mobile	Résultat
Éther de pétrole/ Éther diéthylique	Pour éluer le carotène (apolaire) nous avons choisi un mélange Éther de pétrole/Éther diéthylique dans les proportions 9:1 car l'éther de pétrole est un solvant apolaire. Nous avons ensuite élué la chlorophylle A et B (moins apolaires que le carotène) avec un mélange Éther de pétrole/Éther diéthylique dans les proportions 1:1. Enfin, nous utilisons un mélange Éther de pétrole/Éther diéthylique dans les proportions 1:9 pour éluer la xanthophylle. La différence de couleur entre la chlorophylle A et B est difficile à distinguer. Les fractions des deux chlorophylles sont donc sensiblement les mêmes.
Éther de pétrole/ Acétone	N'ayant plus beaucoup d'éther diéthylique, nous l'avons remplacé par de l'acétone qui est plus polaire. On a donc changé les proportions en solvant pour chaque séparation : -Elution du carotène : mélange à 10% d'acétone. -Elution de la chlorophylle A : mélange à 12% d'acétone. -Elution de la chlorophylle B : mélange à 15% d'acétone. -Elution de la xanthophylle : mélange à 20% d'acétone. Les chlorophylles A et B sont mieux séparées quand on utilise deux éluants différents.



Fractions des différents pigments (de gauche à droite : 1.Carotène, 2.chlorophylle A, 3. Chlorophylle B, 4. Xanthophylle)

2) Choix du support de la phase fixe

Nous avons testé plusieurs supports de phase fixe pour déterminer la meilleure méthode de chromatographie de partage sur colonne.

Support	Résultats
Sable de Fontainebleau	Le sable de Fontainebleau a une couleur beige trop foncée pour voir la couleur des pigments. On ne peut pas suivre l'élution.
Sucre glace	Le sucre glace est blanc donc on peut voir les couleurs jaune, bleu et verte des pigments. Mais la répétabilité de la méthode est trop aléatoire donc on n'a pas retenu ce support.
Maïzena	Lors du dépôt de la solution de chlorophylle, les solvants que l'on a utilisés pour la resolubilisation ont dissous la colonne. La maïzena se confondait avec la phase mobile et l'élution était impossible.
Silice	Nous avons utilisé deux granulométries différentes : -Silice de granulométrie comprise entre 0.04mm et 0.063 mm : la colonne s'est colmatée car la silice était trop fine donc nous n'avons pas pu éluer les pigments. -Silice de granulométrie comprise entre 0.063mm et 0.200 mm : grâce à la couleur claire de la silice nous avons pu suivre l'élution des pigments. La colonne ne s'est pas colmatée. On a pu récupérer des fractions des différents pigments chlorophylliens.

Maïzena



Sucre glace



Silice



Séparation des pigments chlorophylliens par chromatographie de partage sur colonne avec différents supports

IV. Conclusion

Au cours de ce stage nous avons expérimenté plusieurs protocoles afin de trouver une méthode qui réponde à notre thème et qui soit reproductible sur d'autres végétaux. Nous avons appliqué nos expérimentations sur de l'épinard mais aussi sur de l'ortie. Cependant, les résultats obtenus avec ce dernier ne se sont pas révélés aussi concluants qu'avec l'épinard. Après plusieurs essais plus ou moins concluants, nous avons trouvé des techniques satisfaisantes qui répondent à notre problématique :

- Extraction de la chlorophylle à l'éthanol et au dichlorométhane par double filtration sur coton cardé.
- CCM sur plaque de silice avec une phase mobile constituée d'éther de pétrole/ ether diéthylique en concentration 6:4.
- Chromatographie de partage sur colonne de silice de granulométrie comprise entre 0.063 et 0.200 mm avec des éluant de concentrations différentes en éther de pétrole/ acétone.

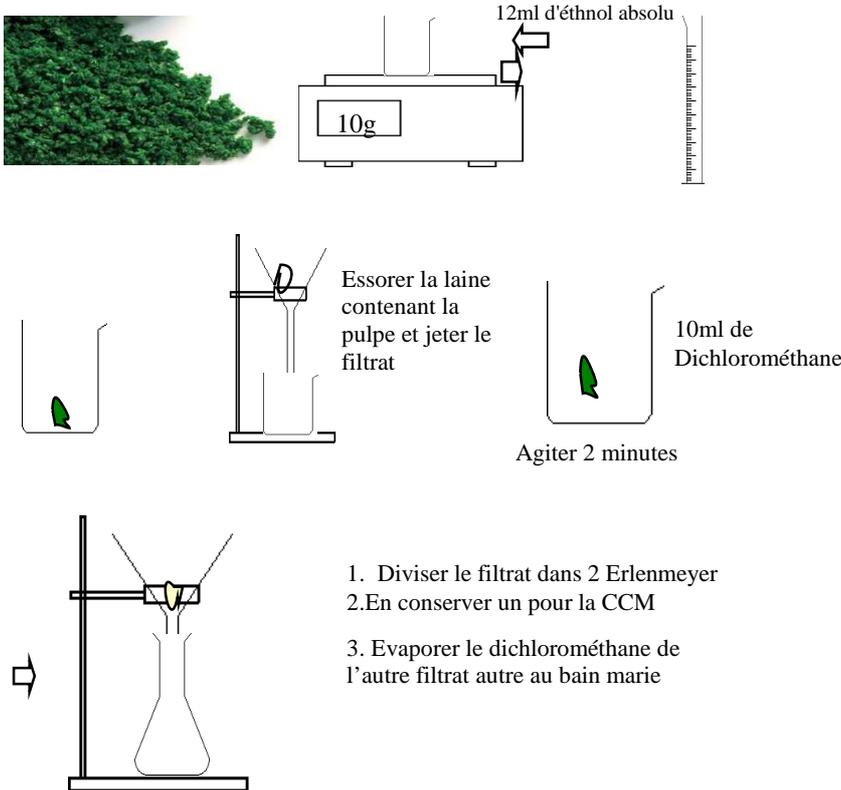
Réactifs	formule	sigles d'avertissements	phrases de risques et sécurité	Traitement des déchets	Précautions	Toxicologie
dichlorométhane	CH ₂ Cl ₂	 	<p>nocif</p> <p>R40 - Effet cancérogène suspecté. Preuves insuffisantes</p> <p>S 23 Ne pas respirer les gaz/vapeurs/ fumées/aérosols (terme(s) approprié(s)) à indiquer par le fabricant).</p> <p>S24/25 Eviter le contact avec la peau et les yeux</p> <p>S36/37 Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.</p>	<p>Récupération dans le bidon des solvants halogénés</p>	<p>-Port de la blouse, des gants, et des lunettes obligatoire.</p> <p>-Travail sous hotte aspirante.</p>	<p>Effet cancérogène suspecté.</p> <p>Intoxication aiguë ou chronique par inhalation.</p> <p>Risques d'irritations ou de brûlures chimiques par dissolution des tissus adipeux.</p>
Éthanol absolu	CH ₃ -CH ₂ -OH		<p>Inflammable danger</p> <p>R11 Facilement inflammable.</p> <p>S7 Conserver le récipient bien fermé.</p> <p>S16 Conserver à l'écart de toute flamme ou source de chaleur.</p>	<p>Récupération dans le bidon des alcools absolus</p>	<p>port de gant et de la blouse</p>	<p>Liquide et vapeurs très inflammables</p>
éther de pétrole	CH ₃ -(CH ₂) _n -CH ₃		<p>cancérogène danger inflammable</p> <p>R22 : Nocif en cas d'ingestion</p> <p>S18 Manipuler et ouvrir le récipient avec prudence</p> <p>S 23 Ne pas respirer les gaz/vapeurs/ fumées/aérosols (terme(s) approprié(s)) à indiquer par le fabricant).</p>	<p>Récupération dans le bidon des solvant non halogénés</p>	<p>-Port de la blouse, des lunettes et -Ne pas travailler à proximité d'une source de chaleur.</p>	<p>L' éther diéthylique est extrêmement inflammable</p>
éther diéthylique	CH ₃ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃		<p>danger inflammable</p> <p>R12 Extrêmement inflammable</p> <p>R19 Peut former des peroxydes explosifs en cas d'ingestion.</p> <p>R22 Nocif</p> <p>R65 L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau.</p> <p>R67 L'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertiges</p> <p>S9 Conserver le récipient dans un endroit bien ventilé</p> <p>S16 Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles. -Ne pas fumer.</p> <p>S29 Ne pas jeter les résidus à l'égout.</p> <p>S33 Eviter l'accumulation de charges électrostatiques.</p>	<p>Récupération dans le bidon des solvant non halogénés</p>	<p>-Port de la blouse, des lunettes et des gants obligatoire.</p> <p>-Travail sous hotte aspirante</p>	<p>-Facilement inflammable. -Irritant pour la peau.</p> <p>-Risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation.</p> <p>-Toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.</p> <p>-Risque possible d'altération de la fertilité.</p> <p>-Peut provoquer une atteinte des poumons en cas d'ingestion. L'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertiges.</p>

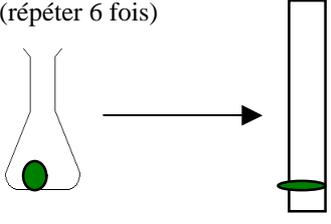
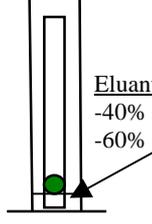
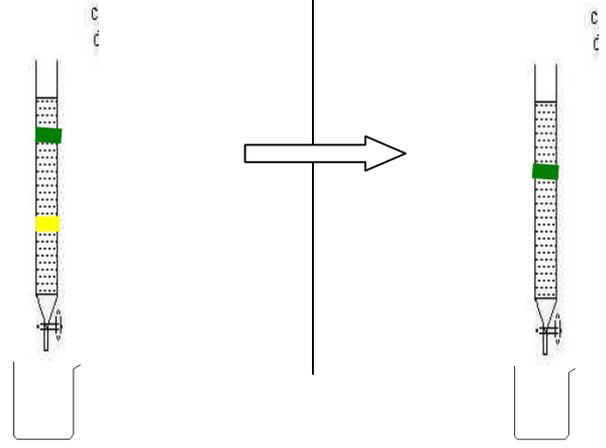
Annexe 1 : Fiche réactifs

Annexe 2 : Fiche matériel

Matériel/Réactif	Quantité	Fournisseur	Référence	Prix unitaire	Prix total
Balance	1	JEULIN	70153184	66.22 €	66.22
Mortier	1	JEULIN	72312984	11.94 €	11.94
Bécher 50mL	4	JEULIN	71311884	2.44 €	9.76
Bécher 250mL	4	JEULIN	71312084	2.72 €	10.88
Erlenmeyer 100mL	1	JEULIN	71360184	5.62 €	5.62
Éprouvette graduée 25mL	1	JEULIN	71317284	4.31 €	4.31
Éprouvette graduée 100mL	1	JEULIN	71324984	5.42 €	5.42
Agitateur magnétique	1	JEULIN	68106184	95.32 €	95.32
Turbulent	1	JEULIN	70343784	5.42 €	5.42
Entonnoir	1	JEULIN	71302584	4.62 €	4.62
Coton cardé	1	JEULIN	10744484	14.05 €	14.05
Bain marie	1	JEULIN	59103784	367.22 €	367.22
Plaque silice (1 boîte)	1	GROSSERON	818033	136.85	136.85
Burette graduée 25mL	1	JEULIN	71301184	19.06 €	19.06
Sable de Fontainebleau	1	GROSSERON	9020100	6.6	6.6
Baguette en verre	1	JEULIN	71300284	7.73 €	7.73
Tube à essai (1lot)	1	JEULIN	71305984	8.83 €	8.83
Portoir	1	GROSSERON	646218	25.16	25.16
Spectrophotomètre	1	JEULIN	70145484	2 607.69 €	2607.69
Cuve pour spectrophotomètre (1boîte)	1	JEULIN	70111984	16.96 €	16.96
Lunettes	4	JEULIN	15000184	5.92 €	23.68
Gants (1 boîte)	1	JEULIN	15017884	8.53 €	8.53
Ether diéthylique (5L)	1	GROSSERON	212770.0314	115.34	115.34
Ether de pétrole (5L)	1	GROSSERON	142698.0314	87.90	87.90
Dichlorométhane (1L)	1	GROSSERON	131254.1611	38.14	38.14
Acétone (5L)	1	GROSSERON	141007.1214	61.65	61.65
				TOTAL	3764.90€

Annexe 3 : Protocole

Opération	Schématisation	Matériel
	 <p>10g</p> <p>12ml d'éthanol absolu</p> <p>Essorer la laine contenant la pulpe et jeter le filtrat</p> <p>10ml de Dichlorométhane</p> <p>Agiter 2 minutes</p> <p>1. Diviser le filtrat dans 2 Erlenmeyer 2. En conserver un pour la CCM 3. Evaporer le dichlorométhane de l'autre filtrat autre au bain marie</p> <p>Dissoudre les pigments avec du Éther de pétrole : éther diéthylique (9:1)</p>	

<p>Séparation des pigments d'épinards par CCM (chromatographie sur couche mince)</p>	<ul style="list-style-type: none"> Découper une bande de plaque de silice d'environ 15 cm. Faire une tâche du filtrat de chlorophylle à environ 1 cm du fond de la bande (répéter 6 fois)  <ul style="list-style-type: none"> Mettre la bande dans une éprouvette de 100ml contenant de l'éluant sans toucher la tâche. Couvrir l'éprouvette.  <p>Eluant : -40% éther de pétrole -60% éther diéthylique</p> <ul style="list-style-type: none"> On observe différentes tâches représentatives des pigments de la chlorophylle. 	<ul style="list-style-type: none"> -Plaque de silice -Ciseaux -Solution de chlorophylle -Eprouvette de 100ml. -Ether de pétrole -Ether diéthylique -Capillaire -couvercle
<p>Séparation des pigments d'épinards</p>	<p>Éther de pétrole : éther diéthylique (9:1) Éther de pétrole : éther diéthylique (1:1)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Burette de 25l -Silice -Éther de pétrole : éther diéthylique (9:1) -Éther de pétrole : éther diéthylique (1:1) -Portoir de colonne -Tubes de récupération des fractions
<p>Mesure de l'absorbance</p>	<p>Mesurer l'absorbance à : -450nm pour la fraction contenant le carotène -666nm pour la fraction contenant la chlorophylle</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Cuve -Spectrophotomètre -Cristallisoir

Annexe 4 : Planning

Date	Matin	Après-midi
07/04/14	<u>Paul, Angéline, Floriane et Amélie</u> : Visite du laboratoire.	<u>Paul, Angéline, Floriane et Amélie</u> : Recherche bibliographique sur le thème de stage
08/04/14	<u>Paul, Angéline, Floriane</u> : Première manipulation ; Extraction de la chlorophylle à partir de feuilles d'épinards.	<u>Paul, Angéline, Floriane</u> : CCM + Première chromatographie de partage sur colonne
09/04/14	<u>Paul, Angéline, Floriane</u> : chromatographie de partage sur colonne avec support de silice.	<u>Paul, Angéline, Floriane</u> : chromatographie de partage sur colonne avec support de sucre glace et « Maïzena »
10/04/14	<u>Paul et Floriane</u> : Extraction de chlorophylle et chromatographie de partage sur	<u>Paul, Angéline, Floriane</u> : chromatographie de partage sur colonne avec support de sucre glace et

	colonne avec support de sucre glace, et mélange sable/silice. <u>Angéline</u> : CCM.	sable
11/04/14	<u>Amélie et Paul</u> : Extraction de chlorophylle à partir de feuilles d'épinards et chromatographie de partage sur colonne avec support de sucre glace. <u>Floriane</u> : Extraction de Chlorophylle à partir de feuilles d'orties <u>Angéline</u> : CCM	<u>Paul, Angéline, Floriane et Amélie</u> : Elaboration des différentes parties du rapport de stage
14/04/14	<u>Paul et Amélie</u> : Extraction de chlorophylle à partir de feuilles d'épinards. Tracé du spectre d'absorption du carotène. <u>Angéline et Floriane</u> : chromatographie de partage sur colonne.	<u>Paul et Amélie</u> : chromatographie de partage sur colonne <u>Angéline et Floriane</u> : Extraction de chlorophylle à partir de feuilles d'épinards.
15/04/14	<u>Paul</u> : Extraction de chlorophylle d'épinard congelé. <u>Amélie, Angéline et Floriane</u> : Colonne chromatographie sur gel de silice.	<u>Paul, Angéline et Amélie</u> : réalisation d'une colonne chromatographie avec une silice plus épaisse <u>Floriane</u> : Mesure de l'absorbance des différents pigments
16/04/14	<u>Floriane et Paul</u> : Colonne chromatographie sur gel de silice <u>Paul/Amélie</u> : Extraction de chlorophylle d'épinard congelé.	<u>Paul</u> : Colonne chromatographie sur gel de silice <u>Amélie/Angéline</u> : Mesure de l'absorbance des pigments séparés
17/04/14	<u>Angéline</u> : Extraction de chlorophylle d'épinard congelé. <u>Paul et Floriane</u> : Colonne chromatographie sur gel de silice.	<u>Angéline et Floriane</u> : Élaboration du rapport. <u>Paul et Amélie</u> : Extraction de Chlorophylle à partir de feuilles d'orties
18/04/14	<u>Paul</u> : Extraction de la chlorophylle de l'ortie <u>Floriane</u> : Colonne chromatographie sur gel de silice. <u>Angéline</u> : CCM	<u>Floriane, Paul et Angéline</u> : élaboration du rapport de stage.
21/04/14	<u>Floriane</u> : extraction de la chlorophylle d'épinards congelés <u>Amélie</u> : colonne de silice	<u>Paul, Angéline, Floriane et Amélie</u> : Élaboration du rapport de stage
22/04/14	<u>Paul, Angéline, Floriane et Amélie</u> : Élaboration du rapport de stage	<u>Amélie</u> : extraction de la chlorophylle d'épinards surgelés <u>Floriane</u> : chromatographie de partage sur colonne de gel de silice