

CROMATOGRÀFIA DE FILTRACIÓ SOBRE GEL  
Carme Zaragoza i Josep Maria Fernández

Aquest tipus de cromatografia també trobat en la bibliografia com "permeació sobre gel", "exclusió molecular" i "tamisat molecular", es un tipus particular de cromatografia líquid-líquid per la separació de substàncies que presenten volums moleculars diferents.

Per fer la separació preparem una columna de cromatografia (segons protocol "Cromatografia en columna"), el suport o matris pot ser SEPHADEX .poliacrilamida .agarosa .el millor per les nostres característiques a classe es el primer. és un polisacàrid sotmés a un encreuament de les seves cadenes moleculars per donar una consistència tridimensional. Com tot polisacàrid conté molts grups hidroxil ( OH ) que confereixen una gran afinitat per l'aigua . amb ella el Sephadex s'infla i forma un gel blanc-transparent que colloquem en la columna.

El seu mecanisme és senzill . com a tota cromatografia en columna primer posem el problema a separar al cap d'amunt de la columna i com eluent aigua.El Sephadex ja inflat forma uns porus de un determinat tamany mig ( hi han uns pocs més grans i uns pocs més petits ) aquest tamany en determina el LIMIT D'EXCLUSIÓ, així les substàncies amb volum molecular superior als porus més grossos no poden entrar a l'interior el gel i per això es mouen amb l'aigua (l'eluent) a través del llit de la columna essent les primeres en sortir de la columna mentre que les més petites poden entrar dins el gel el seu recorregut és més gran i surten també més tard per el fons de la columna.Així si recollim el líquid que va fluïnt per la columna, primer es recullen les molècules més grans després les de volum molecular petit.

MATERIALS I METODES

Les columnes són preparades en PIPETES de 10 ml i també en BURETES de 25 ml, doncs així ens estalviem de comprar la columna ( tenen un preu excessiu ) o de fer-la totalment, aquests estris estan generalment en els laboratoris de BUP.

Llana de vidre en el fons de les pipetes i buretes

Tub de goma i la seva corresponent clau per deixar passar o no , segons interressi , el líquid de la columna ( això per les pipetes , doncs les buretes ja tenen la seva clau ).



SEPHADEX G-25, preparem una dissolució 1:3 (pes-volum) d'aquest en aigua, la quantitat dependrà de on preparem la columna, si en pipeta o be en bureta, posem la papilla i deixem reposar fins formació perfecta de la columna SEMPRE ha de tenir líquid per damunt el nivell de la columna i si afegim una mica de bactericida a la dissolució tindrem columna un mínim de Zanys. Aquest Sephadex té un poder d'exclusió de 5.000 (tota molècula de pes més gran de 5.000 no pot entrar a la matriu de la columna)

#### DICROMAT POTASSIC I

#### BLAU DEXTRA

en 1 ml d'aigua

Fem una dissolució de 50 mg de cada un

Com eluient fem servir aigua destil.lada.

Com constants de cada columna prenem el volum de líquid just abans de sortir el blau dextrà, el volum de blau per una quantitat concreta de mostra, i finalment el volum de líquid fins a sortir el groc del dicromat.

El blau dextrà de pes molecular gran (i Volum molecular gran) surt de la columna el primer doncs les seves molècules no entren en els porus del Sephadex

Els resultats són :

	Volum fins primera gota blava	Volum tot blau	Volum fins primera gota groga
PIPETA :	2,9 ml	1,3 ml	3,6 ml
BURETA :	9 ml	5,8 ml	12 ml



