

MÉMENTO TECHNIQUE À L'USAGE DES BIOLOGISTES ET BIOCHIMISTES

Abderrazak MAROUF et Gérard TREMBLIN



17, avenue du Hoggar
Parc d'Activité de Courtabœuf - BP 112
91944 Les Ulis Cedex A - France

Grenoble Sciences

Grenoble Sciences est un centre de conseil, expertise et labellisation de l'enseignement supérieur français. Il expertise les projets scientifiques des auteurs dans une démarche à plusieurs niveaux (référés anonymes, comité de lecture interactif) qui permet la labellisation des meilleurs projets après leur optimisation. Les ouvrages labellisés dans une collection de Grenoble Sciences ou portant la mention «Sélectionné par Grenoble Sciences» («*Selected by Grenoble Sciences*») correspondent à :

- des projets clairement définis sans contrainte de mode ou de programme,
- des qualités scientifiques et pédagogiques certifiées par le mode de sélection (les membres du comité de lecture interactif sont cités au début de l'ouvrage),
- une qualité de réalisation assurée par le centre technique de Grenoble Sciences.

Directeur scientifique de Grenoble Sciences

Jean BORNAREL, Professeur émérite à l'Université Joseph FOURIER, Grenoble 1

On peut mieux connaître Grenoble Sciences en visitant le site web :

<https://grenoble-sciences.ujf-grenoble.fr>

On peut également contacter directement Grenoble Sciences :

Tél : (33) 4 76 51 46 95, e-mail : grenoble.sciences@ujf-grenoble.fr

Livres et pap-ebooks

Grenoble Sciences labellise des livres papier (en langue française et en langue anglaise) mais également des ouvrages utilisant d'autres supports. Dans ce contexte, situons le concept de **pap-ebook** qui se compose de deux éléments :

- un **livre papier** qui demeure l'objet central avec toutes les qualités que l'on connaît au livre papier,
- un **site web compagnon** qui propose :
 - › des éléments permettant de combler les lacunes du lecteur qui ne posséderait pas les prérequis nécessaires à une utilisation optimale de l'ouvrage,
 - › des exercices pour s'entraîner,
 - › des compléments pour approfondir un thème, trouver des liens sur internet, etc.

Le livre du **pap-ebook** est autosuffisant et certains lecteurs n'utiliseront pas le site web compagnon. D'autres l'utiliseront et ce, chacun à sa manière. Un livre qui fait partie d'un **pap-ebook** porte en première de couverture un logo caractéristique et le lecteur trouvera le site compagnon de ce livre à l'adresse internet suivante :

<https://grenoble-sciences.ujf-grenoble.fr/pap-ebooks/marouf-tremblin>

Grenoble Sciences bénéficie du soutien du **Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche** et de la **Région Rhône-Alpes**.

Grenoble Sciences est rattaché à l'**Université Joseph FOURIER de Grenoble**.

ISBN 978-2-7598-0965-3

© EDP Sciences, 2013

Mémento technique à l'usage des biologistes et biochimistes

Cet ouvrage, labellisé par Grenoble Sciences, est un des titres du secteur *Sciences de la Vie* de la *Collection Grenoble Sciences* (EDP Sciences), qui regroupe des projets originaux et de qualité. Cette collection est dirigée par Jean BORNAREL, Professeur émérite à l'Université Joseph FOURIER, Grenoble 1.

Comité de lecture de l'ouvrage

- Didier ASTRUC, Professeur à l'université de Bordeaux 1
- Pierre CAUMETTE, Professeur à l'université de Pau et des pays de l'Adour
- Athelstan-John CORNISH BOWDEN, Directeur de recherche émérite du CNRS, Marseille
- Antoine DELON, Professeur à l'université Joseph FOURIER, Grenoble 1
- Guy HERVÉ, Directeur de recherche émérite du CNRS, Paris
- Philippe NORMAND, Directeur de recherche CNRS, Lyon

Cet ouvrage a été suivi par Laura CAPOLO pour la partie scientifique et par Frédéric DUMAS pour sa réalisation pratique. L'illustration de couverture est l'œuvre d'Alice GIRAUD, d'après des éléments fournis par les auteurs.

Autres ouvrages labellisés sur des thèmes proches (chez le même éditeur)

Abrégé de biochimie appliquée (*A. Marouf & G. Tremblin*) • Enzymes (*J. Pelmont*) • Cinétique enzymatique (*A. Cornish Bowden, M. Jamin & V. Saks*) • Enzymologie moléculaire et cellulaire, tomes 1&2 (*J. Yon-Kahn & G. Hervé*) • Bioénergétique (*B. Guerin*) • Biodégradations et métabolismes (*J. Pelmont*) • Bactéries et environnement (*J. Pelmont*) • Glossaire de biochimie environnementale (*J. Pelmont*) • Energie et environnement. Les risques et les enjeux d'une crise annoncée (*B. Durand*) • L'énergie de demain (*Groupe Energie de la Société Française de Physique Sous la direction de J.-L. Bobin, E. Huffer & H. Nifenecker*) • Respiration et photosynthèse. Histoire et secrets d'une équation (*C. Lance*) • Sciences expérimentales et connaissance du vivant. La méthode et les concepts (*P. Vignais & P. Vignais*) • La biologie des origines à nos jours (*P. Vignais*) • Histoire de la science des protéines (*J. Yon-Kahn*) • Rencontre de la science et de l'art. L'architecture moléculaire du vivant (*J. Yon-Kahn*) • Chemogénomique. Des petites molécules pour explorer le vivant (*Sous la direction de E. Maréchal, S. Roy & L. Lafanachère*) • Éléments de Biologie à l'usage d'autres disciplines, de la structure aux fonctions (*P. Tracqui & J. Demongeot*) • Chimie le minimum à savoir (*J. Le coarer*) • Chimie organométallique (*D. Astruc*) • Méthodes et techniques de la chimie organique (*D. Astruc*) • Physique et Biologie. Une interdisciplinarité complexe (*B. Jacrot*) • Naissance de la Physique (*M. Soutif*) • L'Asie, source de sciences et de techniques (*M. Soutif*) • Description de la symétrie. Des groupes de symétrie aux structures fractales (*J. Sivardière*) • Symétrie et propriétés physiques. Des principes de Curie aux brisures de symétrie (*J. Sivardière*) • Spectroscopie infra-rouge et Raman (*R. Poilblanc & F. Crasnier*) • Analyse statistique des données expérimentales (*K. Protasov*) • Endocrinologie et communications cellulaires (*S. Idelman & J. Verdetti*) • Radiopharmaceutiques (*M. Cornet & M. Vidal*) • Gestes et mouvements justes (*M. Gendrier*) • La plongée sous-marine (*P. Foster*) • Le régime Oméga 3 (*Dr A. Simopoulos, J. Robinson, Dr M. de Lorgeril & P. Salen*) • Minium Competence in Scientific English (*J. Upjohn, J. Hay, P.-E. Colle, A. Depierre & J. Hibbert*) • Mathématiques pour les sciences de la vie, de la nature et de la santé (*J.-P. Bertrandias, F. Bertrandias*)

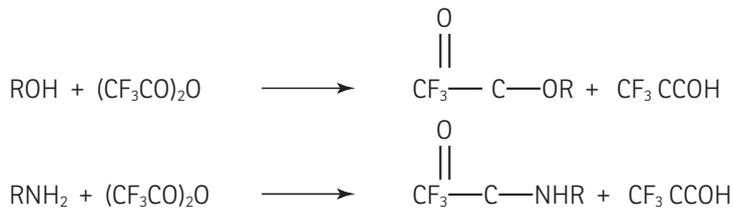
et d'autres titres sur le site internet : <https://grenoble-sciences.ujf-grenoble.fr>

1 Concepts

Dans cette première partie nous avons retenu un certain nombre de concepts présentant des liens plus ou moins étroits avec la biologie au sens large mais aussi avec la biochimie et partiellement la chimie. La connaissance et la compréhension des nombreux concepts que nous avons retenus (un peu moins de 2000 entrées) nous semblent indispensable à un moment ou à un autre de la vie d'un chercheur, d'un étudiant en thèse ou d'un technicien dans un laboratoire. Cette partie de l'ouvrage devait donc permettre de répondre aux mille questions que pourrait se poser un jour l'un d'entre eux.

Nous avons été tenté de les classer par thématiques ce qui aurait donné plus de corps à l'ouvrage mais en définitive, nous avons volontairement choisi l'ordre alphabétique pour en faciliter l'accès et l'utilisation.

Acylation (n.f.) : Elle correspond à la réaction d'un ou de plusieurs radicaux acyles ($R-C=O$) sur des molécules en remplacement d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène actifs : $-OH$ (alcools, phénols, sucres, stéroïdes), $-SH$ (thiols), $-NH$ (amines, nitrosamines), en les transformant en esters, thioesters ou amides, respectivement.



Le radical acyl dérive souvent d'un acide organique par enlèvement d'un **hydroxyle** de tous les groupes acides. Il porte alors le nom de l'**acide** dont il dérive. Ex. acétyl (acide acétique), benzoyl (acide benzoïque), etc.

Applications :

En **chromatographie en phase gazeuse**, l'acylation est particulièrement utilisée pour détecter de faibles doses d'**analytes** avec un **détecteur à capture d'électrons**. Ex. réaction de l'anhydride trifluoroacétique $[(CF_3CO)_2O]$ avec les **alcools** et les **amines**.

L'acylation est un procédé chimique couramment utilisé dans l'industrie agroalimentaire pour adapter et/ou transformer les **propriétés fonctionnelles** des protéines. Il consiste à fixer sur leurs molécules, préalablement hydrolysées, des corps chimiques tels que l'anhydride acétique (acétylation), succinique (succinylation), malique, etc. Par ces associations, des propriétés telles que **solubilité**, **rétenion d'eau**, stabilité à la chaleur sont souvent améliorées alors que d'autres (ex. pouvoir émulsifiant) sont diminuées.

D'un point de vue nutritionnel, ces procédés réduisent fréquemment la valeur de ces protéines.

L'acylation est souvent appliquée aux **hydrolysats** de protéines de poisson, parfois à ceux des protéines végétales et très rarement aux protéines du lait afin d'améliorer leurs propriétés émulsifiantes ou gélifiantes.

Ang. : *acylation*

Additif alimentaire (l.m.) : Toute substance qui n'existe pas normalement dans les aliments mais qui y est ajoutée en faible quantité pour maintenir ou modifier certaines de leurs propriétés nutritionnelles, organoleptiques ou technologiques, au stade de leur fabrication, de leur transformation, de leur préparation, de leur traitement ou conditionnement, de leur transport ou entreposage. Les additifs alimentaires peuvent être naturels ou synthétiques, beaucoup sont d'origine végétale. Leur présence doit être signalée sur l'emballage, dans la liste des ingrédients souvent sous forme d'un code (ex. E407 = carraghénanes).

V.a : *auxiliaire technologique*

Ang. : *food additive*

Adiabatique (Processus ~) (l.m.) : Se dit d'un changement thermodynamique de l'état d'un système de sorte qu'il n'y ait pas de transfert de chaleur ou de masse hors des limites de ce système. Dans un processus adiabatique, l'expansion se traduit toujours par un refroidissement et la compression par un échauffement.

V.a : *calorimètre*

Ang. : *adiabatic process*

Bioénergie (n.f.) : Énergie obtenue à partir de la transformation de la **biomasse** précédemment produite par **photosynthèse**.

Ang. : *bioenergy*

Bioessai (n.m.) : Évaluation de la concentration, de la pureté, et/ou de l'**activité biologique** d'une substance (métabolite, vitamine, hormone, substance de croissance, antibiotique, enzyme, etc.) en testant ses effets sur un organisme vivant, un organe, un tissu, une cellule, une **enzyme**, un récepteur, etc.

Classiquement, les animaux ont été longtemps utilisés dans les bioessais lors de l'étude de l'activité pharmacologique des médicaments. En **toxicologie**, par exemple, l'observation des symptômes chez l'animal intoxiqué permet parfois de déterminer le type de **toxines**. Actuellement, les tests sur animaux sont de moins en moins utilisés pour des raisons éthiques et on tend de plus en plus à utiliser *in vitro* des cellules animales ou végétales, des **bactéries** ou d'autres modèles plus simples.

Exemples de modèles expérimentaux employés pour les bioessais :

- Animaux : rats, lapins, souris, etc.
- Plantes : lentilles d'eau, laitue, radis,
- Organes : foie, cœur,
- Organismes : *Artemia*, Daphnes, insectes, mollusques, nématodes, etc.,
- **Micro-organismes** : bactéries, champignons, levures, etc.,
- Cellules isolées : hématies, œufs d'oursin et cultures de cellules,
- Organites : plastes,
- Enzymes : acétylcholinestérase, xanthine oxydase, etc.

Exemples d'essais biologiques

Activité	Forme
Allélopathique	Test de germination de graines en présence d'un extrait de la plante suspectée
Antibactérienne	Diffusion sur agar, turbidimétrie, bioautographie
Antidiabétique	Rats rendus diabétiques par la streptozotocine ou l'alloxane
Antifongique	Diffusion sur agar, turbidimétrie, bioautographie
Antimitotique	Index mitotique (œufs d'oursin, cellules méristématiques d'apex racinaires)
Antiparasitaire	Organisme (ex. larves, vers)
Antitumorale	Lignées cellulaires
Fixation à un récepteur	ELISA, RIA
Ichtyotoxique	Poissons
Inhibitrice d'enzyme	UV, colorimétrie, radiomarquage
Molluscicide	Mollusques (escargots, limaces)
Mutagène, génotoxique	Test d'Ames, test de comète
Phytotoxique	Modèle végétal (lentille d'eau)
Toxique	Organisme (ex. souris, <i>Artemia</i>)

Hydrocarbure (n.m.) : Importante famille de composés formés uniquement de carbone et d'hydrogène, de formule brute C_xH_y . On distingue :

- les hydrocarbures **aliphatiques** ou linéaires saturés, éthyléniques (comportant une ou plusieurs double liaisons) et acétyléniques (comportant une ou plusieurs triple liaisons);
- les hydrocarbures cycliques saturés ou non, **aromatiques** à noyau simple (benzène) ou complexe (ex : anthracène). Ces hydrocarbures donnent lieu à des réactions d'addition sur la double (alcène) ou la triple (alcyne) liaison. Les hydrocarbures aromatiques sont insaturés et possèdent des électrons π délocalisés sur le squelette.

Les hydrocarbures saturés sont exclusivement formés de carbone quadrivalent et d'hydrogène. Ils résultent pour certains de la décomposition partielle en anaérobie des **microalgues** et des protozoaires au cours des temps géologiques.

Syn. : *carbure d'hydrogène*

Ang. : *hydrocarbon*

Hydrocolloïde (n.m.) : Substance permettant de stabiliser une phase solide dans un milieu aqueux. Il s'agit souvent de polysaccharides de haute masse moléculaire, comportant des zones hydrophobes et hydrophiles, qui leur assurent des propriétés d'émulsifiants et d'épaississants pour les éléments suspendus dans la phase aqueuse du produit alimentaire.

Ils peuvent être extraits de diverses sources : produits amylicés (amidon), substances créées ou modifiées par voie chimique (celluloses modifiées, polyvinylpyrrolidone), extraits d'algues marines (agar-agar, alginates, carraghénanes), extraits de végétaux (gomme arabique, pectines). Ces produits, qu'ils soient naturels ou synthétiques, sont employés comme additifs pour conférer à des préparations alimentaires une **viscosité** ou une **gélification**.

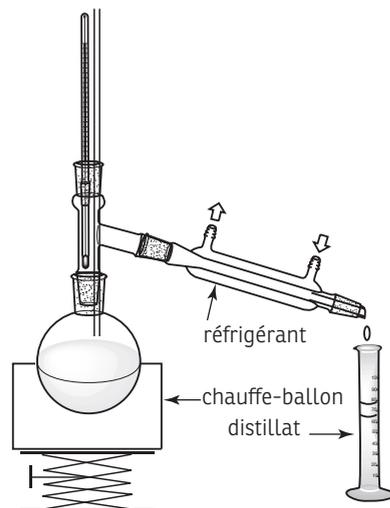
V.a : *agent de texture*

Ang. : *hydrocolloid, bodying agent*

Hydrodistillation (n.f.) : Procédé d'**extraction** qui consiste à chauffer dans un **alambic** un mélange d'eau et de plante aromatique. Les substances volatiles odorantes et la vapeur d'eau sont alors condensées et recueillies à la sortie de l'appareil dans un récipient (vase florentin ou essencier) où, par différence de **densité**, l'eau se sépare des **huiles essentielles** qu'elle avait entraînées.

V.a : *distillation*

Ang. : *hydrodistillation, water distillation*

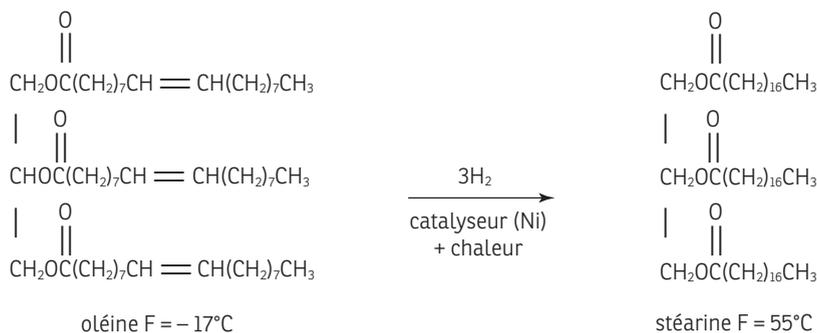


Hydrofuge (adj.) : Qui préserve de l'**humidité**, qui s'oppose au passage de l'eau. Cela peut-être une substance dont on recouvre un produit ou dans lequel on l'insère afin d'en chasser l'humidité ou de l'en prémunir.

Ang. : *waterproof*

Hydrogénation (n.f.) : Fixation d'hydrogène sur les liaisons insaturées des acides gras polyinsaturés. Cette réaction se fait à chaud en présence d'un **catalyseur**, le nickel, pour produire des huiles **concrètes** (dont la température de fusion s'élève et qui seront solides à température ambiante et plus résistantes aux oxydations). Cette réaction est très utilisée pour produire la **margarine**.

Application : Industriellement, cette opération a une importance commerciale puisqu'elle permet de transformer une huile végétale liquide (composée de glycérides insaturés) en une margarine semi-solide à la température ordinaire, plus résistante à l'**oxydation**. Le **point de fusion** d'un corps gras est, en effet, déterminé par la longueur de sa chaîne d'acides gras mais aussi par leur degré d'insaturation. Cette réaction se déroule à chaud (100 à 200 °C) en faisant passer sous pression de l'hydrogène pur en présence d'un catalyseur (sel de cuivre ou de nickel finement broyé). Les acides gras les plus insaturés sont les plus aptes à l'hydrogénation. Cette sélectivité est particulièrement importante, car elle permet de sauvegarder au maximum le principal acide gras essentiel, l'acide linoléique (qui contient 2 doubles liaisons) et d'hydrogéner ceux plus insaturés (ex. acide linoléique qui contient 3 doubles liaisons) qui sont des causes d'altération ultérieures en raison de leur fragilité. Les conditions opératoires telles que la température, la pression, la vitesse d'introduction de l'hydrogène, la nature et la concentration du catalyseur, varient avec le type d'hydrogénation.



Le résultat pratique essentiel de cette opération est multiple :

- réduire la proportion ou faire disparaître les glycérides éthyléniques dont on connaît la sensibilité à l'oxydation et, par conséquent, à l'altération ;
- augmenter la teneur en glycérides saturés, comme ceux de l'acide stéarique, ce qui a pour effet d'accroître la stabilité et surtout d'augmenter le point de fusion ;
- faire disparaître en même temps les odeurs désagréables et la coloration sombre des huiles.

Syn. : *durcissement*

V.a. : *huiles, margarine, interestérisation*

Ang. : *hydrogenation*

Hydrogénocarbonate (NaHCO₃) (n.m.) : Sel de l'acide carbonique (H₂CO₃) et substrat de l'anhydrase carbonique, participant à l'équilibre des carbonates en milieu marin. C'est aussi le **substrat** des réactions de carboxylation du phosphoénol pyruvate mettant en jeu la PEPC lors de la **photosynthèse** chez les plantes en C₄.

Applications : En **pharmacologie** il est utilisé pour calmer les maux d'estomac. En cuisine, c'est l'un des composants avec l'acide citrique de la **levure chimique**, c'est aussi un **additif alimentaire** E500. Il est aussi utilisé dans les extincteurs à poudre.

Syn. : *bicarbonate de sodium, carbonate monosodique*

Ang. : *hydrogenocarbonate*

2 Appareils et instruments

Dans cette seconde partie, la plupart des appareils et des instruments rencontrés dans les laboratoires de biologie et de biochimie sont recensés et décrits. Leur principe est donné et lorsque cela était possible, leurs caractéristiques propres et leurs utilisations les plus courantes sont présentées pour éclairer le choix des méthodes et, le cas échéant, pour faciliter le dialogue entre l'utilisateur et le fournisseur de matériel. Quelques conseils et précautions d'emploi sont ajoutés lorsque cela nous a semblé nécessaire.

A

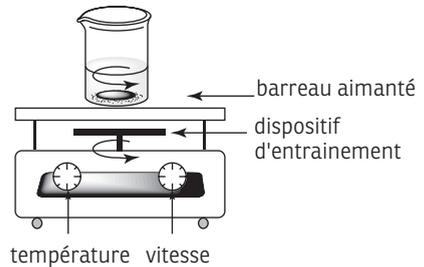
Adoucisseur (n.m.) : Appareil utilisé pour diminuer la **dureté** de l'eau, c'est-à-dire sa teneur en calcium et en magnésium, afin de lutter contre l'entartrage des appareils de laboratoire utilisant de grandes quantités d'eau : production d'**eau distillée**, lave-vaisselle, **réfrigérants**, etc. et éventuellement des canalisations ; les ions calcium et magnésium étant remplacés par des ions sodium sur échangeurs de cations sous la forme ionique Na^+ .

V.a : *dureté de l'eau*

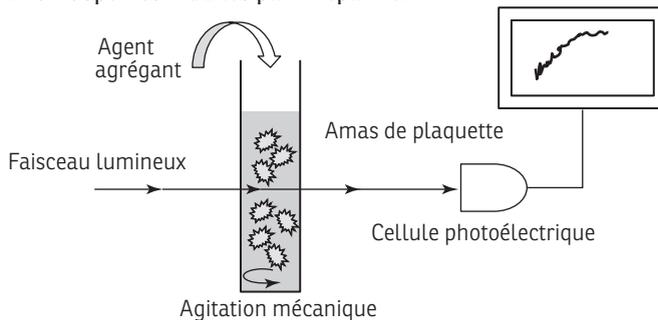
Ang. : *softener*

Agitateur magnétique (l.m.) : Appareil qui permet d'agiter une solution en utilisant la force d'un **champ magnétique**. Un moteur électrique à vitesse réglable entraîne un disque magnétique qui lui-même entraîne un barreau aimanté placé dans la solution à agiter. La puissance du moteur sera fonction du volume à agiter et certains modèles sont équipés d'un système de chauffage afin de faciliter la préparation des solutions.

Ang. : *magnetic stirrer*



Agrégomètre (n.m.) : Appareil destiné à mesurer l'agrégation des plaquettes sanguines. Ce test est réalisé à 37 °C. Le degré de l'agrégation plaquettaire est quantifié par un système de détection optique basé sur la **turbidimétrie**, l'**absorbance**, la **luminescence**, le changement d'impédance électrique, etc. d'une suspension de plaquettes (plasma riche en plaquettes ou plaquettes isolées) soumise à une agitation mécanique en présence d'un **agoniste** plaquettaire exogène (ADP, collagène, acide arachidonique...). Les caractéristiques des tracés d'agrégation obtenus sont le reflet de la capacité fonctionnelle des plaquettes. Outre l'étude des fonctions plaquettaires, l'agrégométrie est utilisée pour l'exploration du facteur Willebrand et pour le diagnostic biologique des thrombopénies induites par l'héparine.



Ang. : *aggregometer*

Air-lift (réacteur ~) (l.m.) : **Bioréacteur** cylindrique dans lequel le milieu de réaction est maintenu agité et aéré par introduction par la base d'air comprimé stérile ou d'un autre gaz qui va générer un flux circulant verticalement. Ce type de réacteur est utilisé pour les seules cultures aérobies et ne convient pas pour la culture de cellules animales.

Ang. : *air-lift reactor, air-lift fermenter*

Chromatographe à fluide supercritique (L.m.) : Le chromatographe à fluide supercritique est constitué d'un réservoir de gaz, habituellement le CO_2 (ou SF_6 , NH_3 , ou Xe), délivré à l'aide d'une **pompe** (à des pressions allant jusqu'à 6000 psi), d'une **colonne** située dans un **four** thermostaté et d'un **détecteur**.

Ang. : *supercritical-fluid chromatograph*

Chromatographe liquide à haute performance (L.m.) : Une installation comporte plusieurs modules reliés par des micro-tuyaux en acier ou en polymère. Le volume de ces micro-tuyaux doit être le plus faible possible pour limiter les volumes morts, les phénomènes de dilution et de distorsion des pics. Le schéma ci-dessous en donne les principaux éléments.

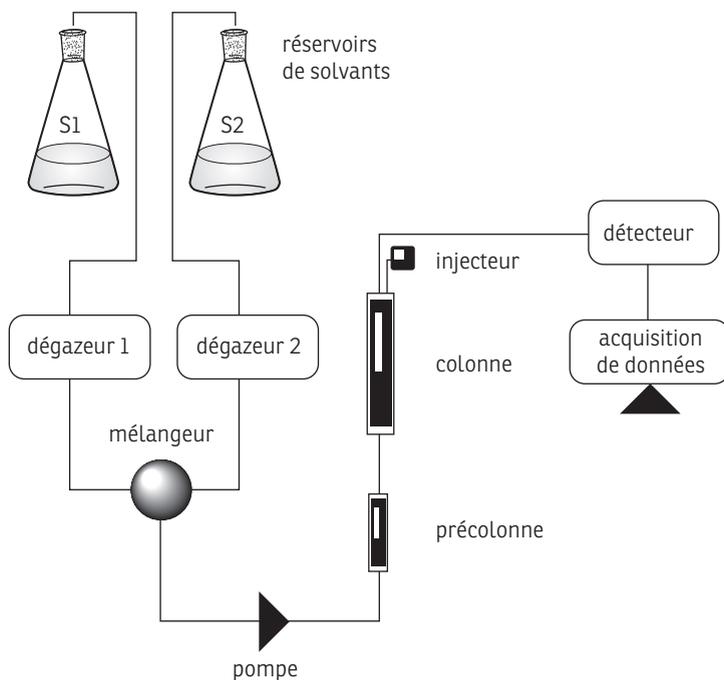


Schéma simplifié des principaux éléments d'une CLHP

Colonnes et solvants

C'est le cœur du système. Les colonnes mesurent habituellement 5 à 25 cm de longueur. Une des tendances dominante dans l'élaboration des colonnes pour la CLHP est la réduction du diamètre interne de 5 mm pour les colonnes standards à moins de 2 mm (colonne étroite) ou moins de 1 mm (microcolonne), en raison des avantages qu'offrent ces dernières. Comparativement aux colonnes standards qui sont utilisées avec des débits de 1,5 à 2,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, les débits plus faibles (15-150 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$) autorisés par les microcolonnes, réduisent considérablement la consommation de **solvants** souvent coûteux de plus de 95 %.

Elles contiennent la **phase stationnaire** dont la **polarité** détermine le mode de chromatographie liquide. Quand la phase stationnaire est apolaire (phase mobile polaire), on parle de chromatographie liquide en **phase inverse**. Quand la phase stationnaire est polaire (phase mobile non polaire), on parle de **phase normale**.

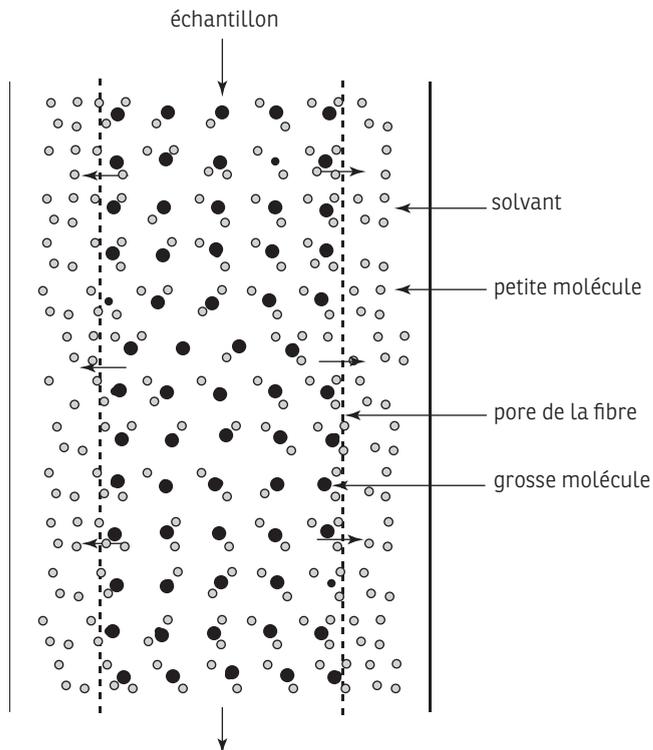
F

Fermenteur (n.m.) : Enceinte généralement en verre ou en inox, stérilisable, dans laquelle se déroulent les **fermentations** microbiennes et, d'une façon plus générale, la culture de **micro-organismes** ou de cellules en vue de la production industrielle de **métabolites** divers (acides aminés, acides organiques, antibiotiques, alcaloïdes, alcools, enzymes, hormones, vitamines, etc.). Il permet aussi des essais au laboratoire en conditions contrôlées comme le traitement des eaux usées, la biotransformation et la biodégradation de déchets agricoles, etc. Le fermenteur, dont le volume peut atteindre 1 000 m³ en milieu industriel, met en jeu tous les systèmes de brassage, d'aération et de contrôle du milieu.

V.a : *bioréacteur*

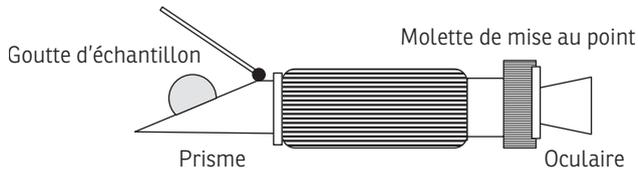
Ang. : *fermenter*

Fibre creuse (L.f.) : **Polymères** inerts, sous forme de capillaires poreux et fins d'un diamètre intérieur de 0,2 à 1 mm et donc un ratio surface/volume interne important. Une augmentation de la pression à l'intérieur des fibres force le **solvant**, les petites molécules et les ions à s'écouler à travers la paroi de la fibre, tandis que les **macromolécules** retenues se concentrent dans le produit en recirculation.



Les cartouches de fibres creuses sont constituées d'un faisceau de plusieurs centaines de fibres scellées dans un cylindre plastique transparent, d'où une grande surface filtrante sous un faible volume. A des pressions comprises entre 1 et 1,75 atm (kPa.cm⁻²), ces cartouches peuvent être utilisées de nombreuses fois ou servir longtemps en continu.

Réfractomètre (n. m.) : Appareil qui permet de mesurer l'**indice de réfraction** d'un milieu liquide. La réfraction est définie comme le changement de direction d'un rayon lumineux lorsqu'il passe d'un milieu ayant des caractéristiques optiques données à un autre. Ce changement de direction est dû à une modification de la vitesse de propagation de ce rayon lumineux à l'interface entre les deux milieux. Cet indice de réfraction (n) est défini comme le rapport entre la vitesse de la lumière dans le **vide** (c) et celle mesurée dans le milieu (v) : $n = c/v$; ainsi, pour la lumière visible et les milieux transparents, il est toujours supérieur à 1. Il varie en fonction de la température et de la **longueur d'onde** mais surtout en fonction de la **concentration** ou de la fraction molaire des constituants de la solution mesurée. Les appareils les plus couramment utilisés dérivent du réfractomètre d'Abbe inventé par ce dernier en 1874 et constitué de deux **prismes** entre lesquels est placé le liquide à mesurer. Il existe des réfractomètres de pailleuse thermostatés et fonctionnant avec une source lumineuse de lumière blanche bien définie et des réfractomètres portables, permettant des mesures sur le terrain de la teneur en sucre (exprimés en Brix) des jus de fruits ou de la **salinité** (exprimée en grammes par litre) des milieux salés comme l'eau de mer.



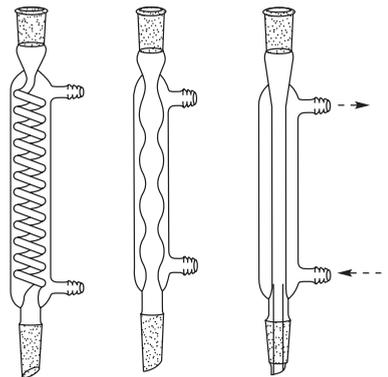
Réfractomètre portable

Ang. : *refractometer*

Réfrigérant (n.m.) : Partie de l'**alambic** où se fait la **condensation** des vapeurs. C'est une colonne à double paroi permettant la condensation de vapeur à l'intérieur d'une enceinte (externe ou interne) alors que l'autre (interne ou externe) est traversée en permanence par un liquide réfrigérant.

Au laboratoire, verrerie composée d'une grosse colonne, à l'intérieur de laquelle est placé un serpentín ou un autre tube droit ou portant des boules, et dans laquelle circule un liquide réfrigérant, en générale de l'eau (voir figure).

Ang. : *cooler*



Régulateur de gaz (l.m.) : En **biologie**, appareil qui permet le contrôle du **pH** dans les **cultures cellulaires** en **bioréacteurs** par l'addition contrôlée de gaz CO_2 , N_2 ou autre. Des régulateurs de gaz équipent également les bouteilles de gaz vecteurs utilisés en **chromatographie en phase gazeuse** ou en **spectrométrie d'absorption** ou d'émission atomique.

Ang. : *gas regulator*

Rehfuss (Tube de ~) (l.m.) : Tube de petit diamètre, avec une pointe en métal à fentes pour prélever des échantillons de nourriture dans l'estomac d'un animal après un repas test.

Ang. : *Rehfuss tube*

3

Formulaire des produits et des réactifs de laboratoire

Cette troisième partie regroupe les recettes des réactifs les plus fréquemment utilisés au laboratoire. La encore, nous avons envisagé dans un premier temps de les classer par catégories en fonction des substances et des produits qu'ils permettaient de mettre en évidence ou de quantifier (ex. amidon, protéines et acides aminés, phénols, tanins, lipides, ions minéraux, etc.) ou encore des techniques (CCM, microscopie, etc.) Toutefois nous sommes revenus à l'ordre alphabétique avec l'idée que cette partie est conçue comme une aide à la recherche d'une recette d'un réactif utilisé dans une manipulation donnée et dont la recette n'est pas fournie avec le protocole ce qui est très fréquent dans les matériel et méthodes des articles scientifiques comme des ouvrages techniques. Les applications citées ne constituent que des exemples significatifs, mais nullement limitatifs, des applications de ces produits et réactifs. Ils donnent une idée de la variété des cas à traiter. Ce chapitre ne fait donc pas double emploi avec les manuels de laboratoire dans lesquels sont présentés le déroulement des manipulations mais vient plutôt en complément.

B

Bain de glace (l.m.) [maintien à basse température] :

Glace en paillettes utilisée au laboratoire pour maintenir au froid (0 à 5 °C) des produits chimiques ou des échantillons biologiques. Si des températures inférieures à 0 °C sont nécessaires, il est possible d'utiliser des mélanges de glace et de divers sels minéraux comme indiqué dans le tableau suivant :

Sel	Ratio sel : glace	Température °C
NH ₄ NO ₃	1 : 0,94	- 4
CaCl ₂ .6H ₂ O	1 : 2,5	- 10
NH ₄ Cl	1 : 4	- 15
NH ₄ NO ₃	0,45 : 1	- 16,8
NaCl	1 : 3	- 20
NaBr	0,66 : 1	- 28
CaCl ₂ .6H ₂ O	1 : 0,8	- 40

Ang. : *ice bath*

Baker (Liquide de ~) (l.m.) [microscopie] :

Fixateur utilisé pour les **lipides**, les **protéines** et les **amines** du système nerveux.

Préparation :

Formol 40 % neutre (pH proche de 7), 10 mL

Chlorure de calcium (CaCl₂) anhydre 10 % dans eau distillée, 10 mL

Eau distillée, 80 mL

Ang. : *Baker's fluid, formalin – calcium fixative*

Bang (Réactif de ~) (l.m.) [dosage des sucres réducteurs] :

Utilisé pour la détermination du glucose (50 mL de solution = 10 mg de glucose).

Préparation : dissoudre dans l'ordre 100 g de K₂CO₃, 66 g de KCl et 160 g de KHCO₃ dans environ 700 mL d'eau à 30 °C. Ajouter 4,4 g de CuSO₄ et diluer à 1 L. Après 24 h, 300 mL sont dilués à 1 L à l'aide d'une solution saturée de KCl ; agiter doucement et utiliser après 24 h.

Ang. : *Bang's reagent*

Barfoed (Réactif de ~) (l.m.) [dosage des sucres réducteurs] :

Permet de détecter la présence de monosaccharides réducteurs.

Préparation : dissoudre 70 g d'acétate de cuivre monohydrate et 9 mL d'acide acétique glacial dans l'eau dans un volume final de 1 L.

Le réactif est très stable et peut se conserver plusieurs années. Les monosaccharides réagissent positivement par la formation d'un précipité rouge-brique dans les 5 min. Les disaccharides ne donnent généralement aucune réaction même après 10 min. Le précipité tend à adhérer aux parois du tube à essai.

Ang. : *Barfoed's reagent*

Cinnamaldéhyde-Acide chlorhydrique (L.m.) [chromatographie sur couche mince] :

Réactif utilisé en **chromatographie sur couche mince** pour la détection des dérivés indoliques.

Préparation : dissoudre 5 mL de cinnamaldéhyde dans 100 mL d'éthanol absolu et ajouter 5 mL d'acide chlorhydrique à 37 % juste avant emploi. Pulvériser la plaque avec cette solution. Placer la plaque dans une cuve saturée par les vapeurs de chlore. Les dérivés indoliques apparaissent colorés en rouge.

Ang. : *cinnamaldehyde- hydrochloric acid*

Cinnamaldéhyde-Anhydride acétique-Acides sulfurique (L.m.) [chromatographie sur couche mince] :

Réactif utilisé en **chromatographie sur couche mince** pour la détection des sapogénines stéroïdes et des stéroïdes.

Préparation :

Solution I : solution éthanolique de cinnamaldéhyde 1 à %.

Solution II : préparer, juste avant emploi, un mélange de 12 parties d'anhydride acétique et 1 partie d'acide sulfurique à 97 %.

Procédure : pulvériser avec la solution I, sécher 5 min à 90 °C puis pulvériser avec la solution II. Après 1-2 min à température ambiante, le **chromatogramme** est chauffé à 90 °C jusqu'à ce que les taches apparaissent.

Ang. : *cinnamaldehyde-acetic anhydride-sulfuric acid*

Citrate de plomb selon Reynolds (L.m.) [microscopie] :

Coloration des coupes en microscopie électronique à transmission.

1. Placer 1,33 g de nitrate de plomb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) et 1,76 g citrate trisodique dans un flacon volumétrique de 50 mL, ajouter environ 30 mL d'eau fraîchement bouillie ou autoclavée (décarbonatée).
2. Boucher le flacon et agiter par intermittence pendant 30 min.
3. Ajouter 8 mL NaOH 1 M (préparé à partir de l'eau décarbonatée), et agiter pour dissoudre le précipité.
4. Ajuster le volume à 50 mL à l'aide de l'eau décarbonatée.
5. Laisser la solution au repos 1 à 2 h avant utilisation.

Ce **colorant** peut être conservé à 4 °C pendant 4 à 6 semaines. Les solutions présentant une certaine **turbidité** doivent être centrifugées (10 min, 15 000 g) avant emploi.

Ang. : *Reynolds lead citrate*

Cleland (Réactif de ~) (L.m.) :

Autre nom du **dithiostréitol**. Voir ce terme.

Ang. : *Cleland's reagent*

Cobaltnitrite de soude (Réactif au ~) (L.m.) [recherche du K] :

Mise en évidence du potassium, formation d'un précipité jaune.

Préparation : dissoudre 2 g de cobaltnitrite de sodium ($\text{CoN}_6\text{Na}_3\text{O}_{12}$) et 2 g d'acétate de sodium ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$) dans 10 mL d'eau distillée.

Ang. : *sodium cobalt nitrite reagent*

Colcemide (n.f.) [doublement des chromosomes] :

Equivalent méthylé synthétique de la **colchicine**. Il se fixe à la tubuline et inhibe la formation du fuseau mitotique. Utilisé pour induire l'**apoptose** des cellules HeLa S3 par blocage de la **mitose**. La colcemide est moins toxique que la colchicine.

Eau de Javel (l.f.) : Mélange en solution aqueuse d'hypochlorite de sodium et de sel (chlorure de sodium), utilisé comme **détergent** et **désinfectant**. On la trouve sous deux appellations différentes : l'eau de Javel diluée classique à 12° chlorométrique (38 g.L⁻¹ de chlore actif) et l'extrait d'eau de Javel à 48° chlorométrique (152 g.L⁻¹ de chlore actif) ; Les pastilles d'eau de Javel sont en fait des pastilles de dichloroisocyanurate de sodium (C₃Cl₂N₃NaO₃), dissoutes dans l'eau, le dichloroisocyanurate de sodium réagit avec l'eau pour donner de l'hypochlorite de sodium (NaOCl) et de l'acide cyanurique (C₃H₃N₃O).

Application : au laboratoire l'eau de javel est utilisée pour détruire les **micro-organismes**.

Ang. : *bleach*

Eau de mer (recette simplifiée) (l.f.) [milieu marin] :

Préparation : dissoudre 30 g de chlorure de sodium, 0,9 g de chlorure de potassium, 1,9 g de chlorure de calcium et 4,19 g de sulfate de magnésium dans 1 L d'eau distillée.

Ang. : *sea water*

Eau de mer artificielle (EMA) (l.f.) [milieu marin] :

Utilisée en routine pour cultiver des **microalgues** en laboratoire.

Préparation : les solutions I et II (tableau 1) sont préparées séparément à volume égal, stérilisées à l'**autoclave** à 120 °C pendant 20 min, puis mélangées pour donner le milieu final EMA. Au mélange des solutions I et II, il convient d'ajouter les **nutriments**, les métaux et les vitamines. Ces derniers sont préparés sous la forme de solutions stocks, stérilisées comme précédemment, où filtrées sur **filtres** seringues (0,22 µm) pour les solutions contenant des sels de fer et des vitamines, puis des volumes précis de celles-ci sont ajoutés au mélange des solutions I et II (Tableau 2).

Tableau 1 : Milieu EMA modifié d'après Harrisson *et al.* (1980)
complémenté par de Brouwer *et al.* (2002)

EMA	MM ¹ (g.mol ⁻¹)	CMF ² (g.L ⁻¹)	CF ³ (mol.L ⁻¹)
<i>Solution I – Sels anhydres</i>			
NaCl	58,44	21,214	3,63.10 ⁻¹
Na ₂ SO ₄	142,44	3,551	2,50.10 ⁻²
KCl	74,55	0,599	8,04.10 ⁻³
NaHCO ₃	84,01	0,174	2,07.10 ⁻³
KBr	119,00	0,0863	7,25.10 ⁻⁴
H ₃ BO ₃	61,83	0,0230	3,72.10 ⁻⁴
NaF	41,99	0,0027	6,57.10 ⁻⁵
<i>Solution II – Sels hydratés</i>			
MgCl ₂ , 6H ₂ O	203,30	8,376	4,12.10 ⁻²
CaCl ₂ , 2H ₂ O	147,01	1,382	9,40.10 ⁻³
SrCl ₂ , 6H ₂ O	266,62	0,022	8,20.10 ⁻⁵

MM : la masse molaire du composé en g.mol⁻¹, CMF : la concentration finale EMA en g.L⁻¹, CF : la concentration finale EMA en mol.L⁻¹.

T

Tampon acétate (l.m.) [biologie moléculaire] :

Préparation de 100 mL de **tampon** acide acétique/acétate de K ou acétate de Na 0,1 M pH compris entre 3,6 et 5,6 (voir tableau ci-dessous).

Solutions mères :

- Acide acétique 0,2 M mélanger 11,55 mL d'acide acétique glacial dans 500 mL d'eau distillée puis ajuster à 1 L.
- Acétate de sodium 0,2 M dissoudre 27,21 g d'acétate de sodium hydraté (CH_3COONa , 3 H_2O) dans 500 mL d'eau distillée puis ajuster à 1 L.
- Acétate de potassium 0,2 M dissoudre 19,62 g d'acétate de potassium dans 500 mL d'eau distillée puis ajuster à 1L.

pH	Acide acétique 0,2 M (mL)	Acétate de Na ou de K 0,2 M (mL)	H ₂ O (mL)
3,6	46,3	3,7	50
3,8	44,0	6,0	50
4,0	41,0	9,0	50
4,2	36,8	13,2	50
4,4	30,5	19,5	50
4,6	25,5	24,5	50
4,8	20,0	30,0	50
5,0	14,8	35,2	50
5,2	10,5	39,5	50
5,4	8,8	41,2	50
5,6	4,8	45,2	50

Après préparation, il est conseillé de vérifier le **pH** avec un **pH-mètre**.

Ang. : *acétate buffer*

Tampon cacodylat (l.m.) [tampon] :

Tampon couramment utilisé dans les procédures de préparation du matériel biologique en vue d'une étude en microscopie électronique.

Préparation (pour 1 L de tampon cacodylate 0,2 M, pH 7,2-7,4) :

Solution A :

Cacodylate de sodium ($\text{Na}(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) : 42,8 g

Eau distillée : 100,0 mL

Solution B (HCl 0,2 M) :

HCl concentré (36-38 %) : 10 mL

Eau distillée : 603 mL

La solution stock du pH désiré peut être obtenue par addition de la Solution B comme indiqué ci-dessous à 20 mL de Solution A et ajustement du volume total à 200 mL.