

CHROMATOGRAPHIE DES ACIDES AMINES

Proposé par Mireille JOSEPH

PRINCIPE

Une technique très employée pour séparer les acides aminés en fonction de leur migration

MATERIEL

- Plaque d'aluminium recouverte de cellulose ou plaque de gel de silice prêtes à l'emploi
- Pipettes pasteur ou tubes capillaires (diamètre 1/3 de millimètre)
- Cuve à chromatographie (pot de confiture ou béccher recouvert d'un couvercle de boîte de pétrie)
- Cuvette pour la révélation
- Etuve ou sèche cheveux
- Papier filtre ou essuie tout
- Solutions témoins dans tubes à hémolyse
- Solvant de migration
- Solution de révélation

REACTIFS

Solvant de migration

- Butanol 70 ml
- Acide acétique 18 ml
- Eau distillée 12 ml

Acides aminés

- Alanine, proline, leucine, valine, sérine, etc...
- Ils doivent être à saturation dans de l'eau distillée
- Ne pas faire de grandes quantités puisqu'il ne faut qu'une micro goutte. 1 à 2 millilitres par TP.
- Les solutions peuvent se garder au réfrigérateur

Réactif à la ninhydrine

- Ninhydrine 0,1 gr
- Eau distillée 10 ml

La ninhydrine est un hydrate de tricétonhydrinlène. *Elle doit être utilisée en solution fraîche et très diluée (1% maximum)*

Comme elle s'altère très vite il est conseillé de la préparer en très petite quantité et juste au moment de l'utilisation.

TECHNIQUE

Le remplissage des cuves doit se faire 24 heures à l'avance. Le niveau du solvant ne doit pas être supérieur au trait fait sur la plaque (entre 1,5 cm à 2 cm de hauteur)

Découper les feuilles de gel de cellulose à une largeur inférieure à celle de la cuve, et en prenant soins de ne pas mettre ses doigts dessus (*prendre des gants latex à usage unique*)

Tirer un trait à 2 cm du bas de la plaque avec un crayon mine graphite, *surtout pas de feutre ou de stylo bille.*

Prélever avec une pipette capillaire, *différente pour chaque acide aminé*, un échantillon de chaque solution

Déposer des gouttes des solutions témoin à intervalles réguliers sur le trait du départ. Ne jamais mettre les doigts sur le gel

Sécher et renouveler l'opération.

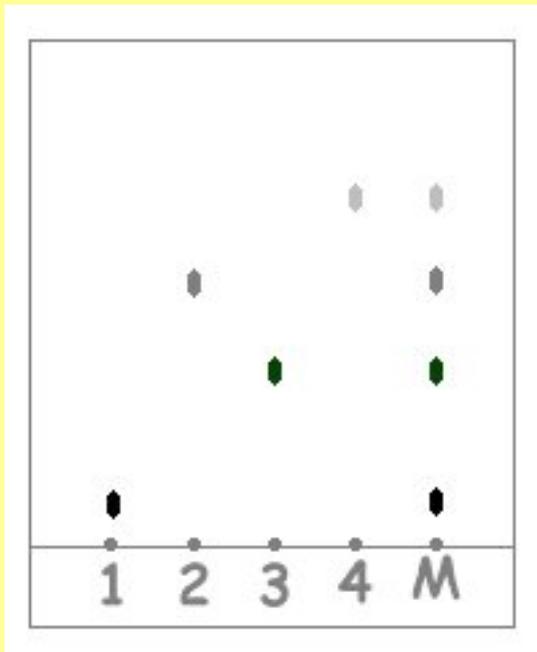
Placer la plaque dans la cuve et laisser migrer environ 1 heure.

Sécher la plaque et vaporiser la solution révélatrice sous hotte aspirante.

Sécher aux sèche cheveux jusqu'à apparition des taches.

La ninhydrine étant cancérigène, il faut travailler sous hotte aspirante.

RESULTATS



1 : Glycine
2 : Tyrosine
3 : Tryptophane
4 : Leucine
M : Mélange des 4 acides aminés