



## SEPARAZIONE DI UNA MISCELA DI AMMINOACIDI (cromatografia su carta o TLC)

A cura di Rossana Baglioni

**Obiettivi:** Acquisizione del concetto di cromatografia. Preparazione e sviluppo di un cromatogramma. Individuazione cromatografica di Aa sconosciuti utilizzando come standard Aa noti.

**Esperienza:** Separazione di sostanze in miscela tra loro.

**Materiali:** Soluzioni amminoacidi standard e incogniti, carta bibula, lastre di gel di silice, camera di sviluppo, solventi ed eluenti per amminoacidi, (alcol isopropilico, n-butanolo, acetone, acido acetico) ninidrina 0,1-0,2%.

**Procedimento:**

- a) Preparare le soluz. di Aa allo 0,1% in alcool isopropilico e acqua rapporto 1:3.
- b) Preparare l'eluente (sol.A e sol.B da miscelare al momento dell'uso);  
Sol. A: n-butanolo, acetone 1: 1 / Sol. B: acido acetico, acqua 7:23
- c) Preparare la sol. di ninidrina allo 0,1/0,2% in butanolo.
- 1) Prepara un foglio di carta bibula 15x18. Con una matita e una riga traccia una linea sottile a 2 cm dalla base del foglio (dove si depositeranno gli Aa)
- 2) Segna sulla linea alcuni punti equidistanti indicando sotto ogni punto la sigla dell'Aa che vi depositerai.
- 3) Deposita con un contagocce, su ogni punto uno specifico Aa e la soluz. incognita che dovrai individuare. Lascia asciugare tra una deposizione e la successiva per evitare che la goccia si espanda troppo. (Le macchie devono avere un diametro non super. a 5 mm )
- 4) Versa l'eluente (le sol. A+B) nella camera di sviluppo.
- 5) Introduci poi nella camera di sviluppo la carta con gli Aa depositati in basso, il volume dell'eluente deve essere inferiore al fronte del deposito.
- 6) Lascia che l'eluente salga per capillarità nella carta per circa 1 ora.
- 7) Togli la carta dalla camera e segna con la matita il fronte dell'eluente. Lascia asciugare il foglio.
- 8) Spruzza la ninidrina sul foglio operando sotto cappa perché la ninidrina è tossica. Lascia asciugare. Appariranno delle macchie in corrispondenza degli Aa dopo riscaldamento in stufa a 110°C per 5 minuti.
- 9) Misura le distanze dall'origine al centro di ogni macchia e dall'origine al fronte dell'eluente. Registra i dati sulla scheda.

Calcolo				
Valori sperimentali	Colore	Distanza percorsa cm	Calcolo Rf	Valore Rf
Fronte eluente				
Arginina				
Alanina				
Prolina				
Acido aspartico				
Acido glutammico				
Metionina				
Ornitina				
Valina				

Risultati:

La miscela incognita contiene due Aa con questi Rf:

Aa incognito: Rf=.....

Gli Rf degli Aa incogniti corrispondono rispettivamente agli Rf degli Aa di riferimento:

1° Aa:.....

2° Aa:.....

Considerazioni:.....

.....

.....

ATTENZIONE: per prima cosa controllare sempre le etichette di sicurezza presenti nei flaconi o nelle bottiglie. La ninidrina è un prodotto nocivo per inalazioni, a contatto con la pelle e per ingestione, indossate guanti per evitare il contatto con la pelle e non respiratene i vapori; lavorate sotto cappa. In caso di contatto accidentale, lavare immediatamente la parte interessata con acqua e sapone. Gli altri prodotti impiegati non presentano particolare pericolosità. Alcuni vengono classificati come “nocivi” o “irritanti” o “infiammabili”, ma, vista l’esigua quantità necessaria per la presente esperienza, è sufficiente evitarne il contatto diretto con la pelle.

#### SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Versate i reattivi dopo l’esperienza nel contenitore di raccolta liquidi.