



CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE (TLC) DI UNA MISCELA DI LIPIDI

A cura di Rossana Baglioni e Cristina Gatti

La cromatografia su strato sottile (TLC) è una tecnica molto diffusa che con rapidità e semplicità di esecuzione, permette di avere risultati precisi e sufficientemente riproducibili.

La TLC è una cromatografia in cui l'adsorbente, che costituisce la fase stazionaria, è distribuito uniformemente su di una lastra di vetro ed ha uno spessore rigorosamente costante che può variare da 0,15 a 2 mm.

Tra gli adsorbenti più comunemente usati è da ricordare il **gel di silice** (acido silicico) che, avendo caratteristiche acide, è estremamente **adatto a separare miscele di molecole lipidiche** sia neutre che polari. Il solvente di eluizione, costituito da una miscela di solventi organici e non, rappresenta la fase mobile e viene preparato in base alle classi lipidiche presenti nel campione da cromatografare.

Il campione contenente i lipidi viene applicato con apposito seminatore a circa 2 cm dal bordo della piastra.

PROCEDIMENTO:

- In una camera di risoluzione cromatografica viene prima introdotto il solvente, quindi si pone verticalmente la piastra e infine si chiude ermeticamente la camera così da poter avere al suo interno un'atmosfera satura di solvente.
- Il solvente risale per capillarità dal fondo del recipiente e con esso migrano a velocità diverse i singoli componenti della miscela lipidica, separandosi gli uni dagli altri.

Quella che è stata descritta è una cromatografia monodimensionale ma è possibile ottenere separazioni più nette effettuando una cromatografia bidimensionale, cioè sviluppando dapprima in una direzione con primo solvente, quindi in direzione perpendicolare alla precedente con un secondo solvente.

- Quando il solvente è arrivato a pochi centimetri dal bordo della piastra, questa viene tolta, si fa evaporare il solvente stesso e si effettua **la visualizzazione del cromatogramma** con particolari reattivi.

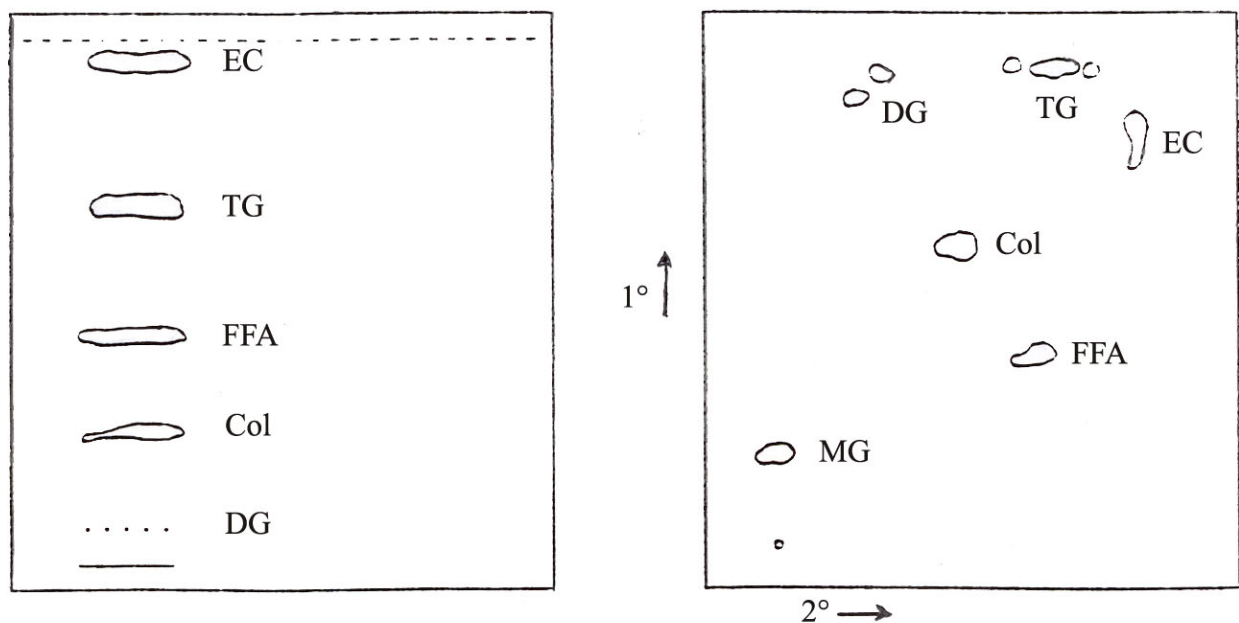
Nel caso della miscela lipidica, è **lo iodio il reattivo più usato, in grado di legarsi ai doppi legami degli acidi grassi** mono e poliinsaturi presenti nei lipidi.

I campioni usati sono: lecitina di soia ed estratto organico di cervello.

- Dalla lecitina vengono estratti i lipidi con **Cloroformio / Metanolo 2:1**, l'estratto viene filtrato ed una piccola quantità seminata sulla piastra cromatografica.

Si può effettuare una **cromatografia monodimensionale** utilizzando come solventi di risoluzione **C / M / Acqua in rapporto 65 : 25 : 4** oppure una cromatografia bidimensionale usando per la prima corsa lo stesso solvente e per la seconda **C / M / Acetone / Ac. Acetico/ Acqua in rapporto 75 : 15 : 30 : 15 : 7,5**.

Separazione cromatografia mediante TLC dei lipidi neutri e polari



ATTENZIONE:

I 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, manipolare con cura ed eventualmente lavorare sotto cappa.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI:

Versare nel contenitore di raccolta liquidi.