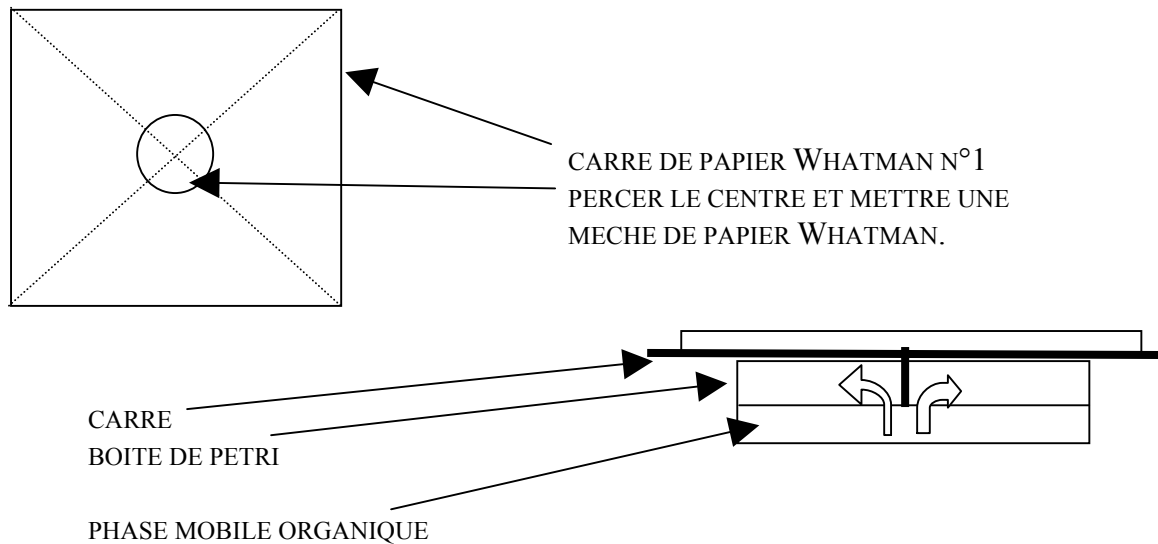


LA CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE

Application: chromatographie circulaire d'acides aminés

1.Montage:



2.Préparation de la phase mobile: (sous la hotte)

Préparer dans une ampoule à décanter:

- | | |
|------------------|------|
| - n butanol | 40 V |
| - acide acétique | 10 V |
| - eau distillée | 50 V |

Agiter, laisser décanter.

Récupérer les deux phases séparément.

L'eau saturée de butanol servira à saturer l'enceinte de migration.

Le butanol acétique constitue la phase mobile.

3.Préparation des échantillons:

* Préparer un jus de citron. Filtrer sur gaze.

* Mettre 1 g de bouillon KUB en solution dans 50 mL d'eau chaude. Filtrer sur gaze.

Décolorer au noir animal . Filtrer sur filtre ordinaire.

* Mettre en solution 1 gélule de "Lobamine Cystéine" dans 20 mL d'eau

4.Dépôts:

Préparer une série de capillaires ou des cures dents .

Avec ces capillaires ou ces cures dents déposer les témoins et les essais sur un cercle de diamètre 2 cm dont le centre est le trou où sera placée "la mèche". Effectuer 2 ou 3 dépôts fins pour obtenir une concentration suffisante. Sécher entre chaque dépôt pour éviter la diffusion des échantillons.

5.Développement du chromatogramme - Révélation :

- Faire tremper la mèche dans la phase mobile
- Protéger la migration par le couvercle de la boîte
- Laisser migrer jusqu'au bord de la boîte..

- Marquer immédiatement le front du solvant.
- Laisser sécher.
- Révéler en passant la feuille sous un brouillard de ninhydrine, chauffer à l'étuve quelques minutes à 80 - 90°C

6. ANALYSE DES RESULTATS:

6.1. Qualité-maintenance- sécurité:

6.1.1. Qualité:

Citer les qualités essentielles requises dans ce protocole.

6.1.2. Maintenance:

Préciser les gestes de maintenance à réaliser durant le TP.

6.1.3. Sécurité:

- Établir la liste des produits dangereux.
- Rechercher les risques et les conseils de sécurité de chaque produit.
- Préciser le mode d'élimination des déchets.

6.2 Analyse des chromatogrammes:

- Etablir un tableau de résultats.
- Calculer les Rf de chaque tache.
- Identifier les acides aminés des échantillons par leur coloration à la ninhydrine et leur position.
- Justifier leur position sur le chromatogramme à partir de leurs polarités respectives.
- Déterminer la composition qualitative des échantillons analysés.

Matière d'œuvre

TP01.doc		
Matériel	Etiquette	Quantité
boîtes de Pétri		18
carrés de papier Wathman n°1 (12 x 12 cm)		20
Capillaires ou cures dents		10 par binôme
butanol		500 mL
acide acétique		250 mL
ampoule à décanter + support		2
2 flacons émeri de 250 mL (1 brun et 1 blanc)		
9 batteries d'acides aminés à 2 g/L Proline Méthionine Acide glutamique Tyrosine Cystéine	Pro Met Glu Tyr Cys	
1 citron + presse citron		
1 boîte de bouillon KUB		
gaze		
noir animal		
filtre		
Lobamine Cystéine (médicament) (1 gélule dans 10 mL)	Lob-Cys	9 tubes de 1 mL
flacon de récupération pour solvants organiques		
ninhydrine dans butanol		250 mL
pulvérisateur		1
plaque de protection pour pulvérisation sous la hotte		1
gants pour solvants		