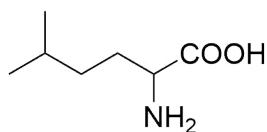
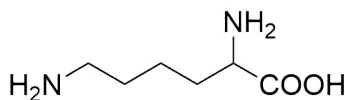


SÉPARATION D'ACIDES AMINÉS PAR ÉLECTROPHORÈSE

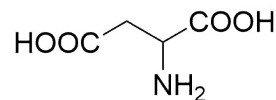
Référence : Chimie du petit déjeuner p71



Leucine



Lysine



Acide Aspartique

1 Protocole

1.1 Produit

- tampon phosphate pH=6,1
- acide aspartique
- leucine
- lysine
- solution de ninhydrine à 2g/L en vaporisateur

1.2 Matériel

- appareil d'électrophorèse U=100V
- tubes capillaires
- Papier Whatman pour électrophorèse
- papier absorbant

1.3 Manipulation

1. Dans une fiole jaugée de 10 mL dissoudre 0,15 g de leucine, de lysine et d'acide aspartique. **Attention** : manipuler avec des gants pour éviter de déposer des acides aminés présents sur nos mains.
2. Plonger la bande de papier Whatman dans la solution tampon. L'égoutter sur le papier absorbant. Placer la bande dans l'appareil à électrophorèse dont les bacs ont été préalablement remplis de solution tampon.
3. Au centre de la bande déposer une mince ligne de solution à étudier
4. Appliquer une tension d'environ 100 V (2mA) pendant 2 heures. Arroser de temps en temps la bande de solution tampon pour éviter qu'elle ne s'assèche à cause de l'effet Joule
5. Égoutter puis sécher la bande à l'étuve ou au sèche cheveu
6. Pulvériser de la ninhydrine. Pour révéler, mettre à l'étuve 80 °C pendant 5 minutes

On obtient trois lignes colorées par réaction avec la ninhydrine.

2 Exploitation

Acide aminé	pKa de la fonction acide	pKa de la fonction amine	pI
Leucine	2,3	9,6	6,0
Lysine	2,2	9,0 et 10,5	9,7
Acide aspartique	1,9 et 3,6	9,6	2,8

A pH=6 :

- l'acide aspartique est chargé négativement : il migre vers la borne + du générateur
- la lysine est chargé positivement : elle migre vers la borne - du générateur
- la leucine est neutre : elle migre peu

La ninhydrine est un révélateur d'acide aminés. Les bandes sont de couleurs bleu ou violette.