

Aminosavak azonosítása vékonyréteg-kromatográfián

Vizsgálat elve: a rétegre felvitt aminosavak a futtatószerrel előrehaladva, eltérő adszorpciójuk miatt egymástól elválnak. Színessé tételük után a minta aminosav tartalmát az azonosan futtatott standard aminosavakhoz hasonlítva, az R_f értékek alapján határozzuk meg.

Eszközök, vegyszerek: 0,5%-os aminosav oldatok (6 db), eluens (n-butanol, etanol, víz elegye), ninhidrin 1,0%-os alkoholos oldata (vegyifülke alatt), 20x10 cm-es Kiselgel vékonyréteglap, vonalzó, grafitceruza, aminosavanként 1 db VRK-s pipetta (10 λ =10 μ l), műanyag mintatartó, hajszáritó, futtatókád.

Minta: a standardokból kerül kiadásra műanyag mintatartóba.

A vizsgálat menete

1. Vonalzó és ceruza segítségével nyolc darab, körülbelül azonos szélességű oszlop kijelölése és az oszlopok karcolással történő elválasztása (lásd a mintát)

2. Startvonal kijelölése grafitceruzával: a réteg aljától kb. 2-3 cm-re legyen.

Az aminosav oldatokat felcímkézett mintatartókkal együtt az ismeretlen kiadásához beadjuk.

A standardokból és a mintából összesen 8 helyre, 5-5 μ l-t viszünk fel.

| | | | | | | | |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------------|------------|
| 1. hely | 2. hely | 3. hely | 4. hely | 5. hely | 6. hely | 7. hely | 8. hely |
| A, B | B, C | C, D | D, E | E, F | F, A | ismeretlen | ismeretlen |

A,B,C...stb. jelölések az aminosavakat jelentik (az aminosav sorrendet jegyezze fel!).

A felcseppentést több részletben, állandó szárítással végezzük úgy, hogy közben ne sértsük fel a réteget, ill. a folt átmérője ne haladja meg a 3-4 mm-t.

3. A réteget a kádba helyezzük. A kádat a fedővel lezárjuk. Addig futtatunk, amíg a futtatószer legalább a réteg közepéig jut (kb. 1 óra) vagy tovább a 2/3 részig (még 30-45 perc).

4. A réteget vegyifülke alatt hajszáritóval megszáritjuk, majd függőlegesre állítjuk és ninhidrin oldatával egyenletesen lepermetezzük.

Az aminosavak R_f értékeit meghatározzuk és megállapítjuk a minta aminosav-összetételét.

Beadandó végeredmény: az aminosavak R_f értékei, a minta aminosav-összetétele.