

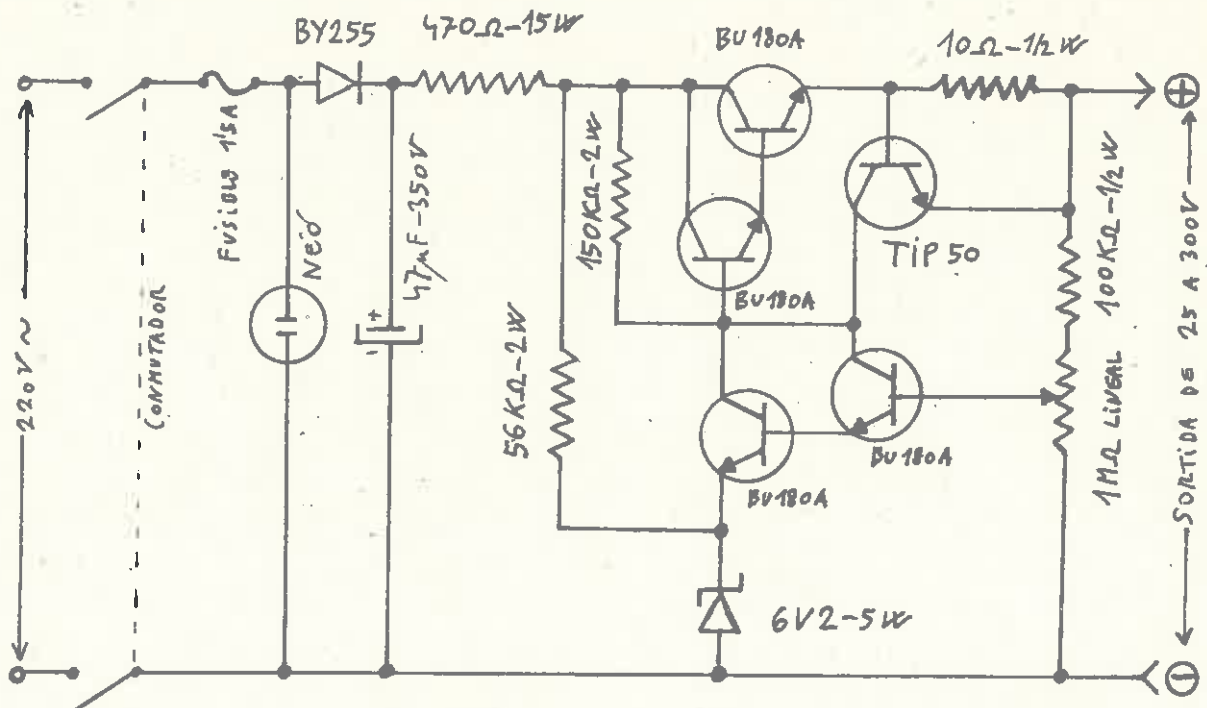
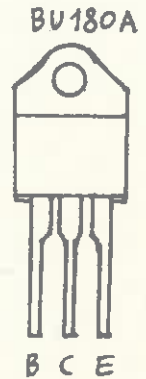
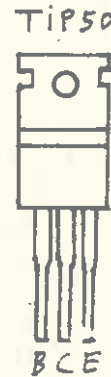


CONSTRUCCIÓ D'UNA FONT PER A ELECTROFORESI DE 25 A 300 V.
SEPARACIÓ D'AMINOACIDS PER ELECTROFORESI EN PAPER

Aquesta font dona un voltatge estabilitzat que es pot ajustar a qualsevol valor entre 25 i 300 V i és curtcircuitable, la intensitat de curtcircuit és limitada a 250 mA però si dura massa estona pot destruir els transistors per escalfament.

Material:

- 4 transistors BU 180 A.
- 1 transistor TIP 50.
- 1 diode BY 255.
- 1 zener de 6,2 V - 5 W.
- 1 condensador de 47 μ F - 350 V (electrolític).
- 1 resistència de 470 Ω - 15 W.
- 1 " " 56 K Ω - 2 W.
- 1 " " 150 K Ω - 2 W.
- 1 " " 100 K Ω - 1/2 W.
- 1 " " 10 Ω - 1/2 W.
- 1 potenciòmetre d' 1 M Ω lineal.
- 1 pilot de neó.
- 1 portafusible.
- 1 fusible d' 1,5 A.
- 1 conmutador de 2 circuits-2 posicions.
- 1 capsa de plàstic de 16x8x6 cm.
- Cable, endoll, 2 pinces de cocodrill.



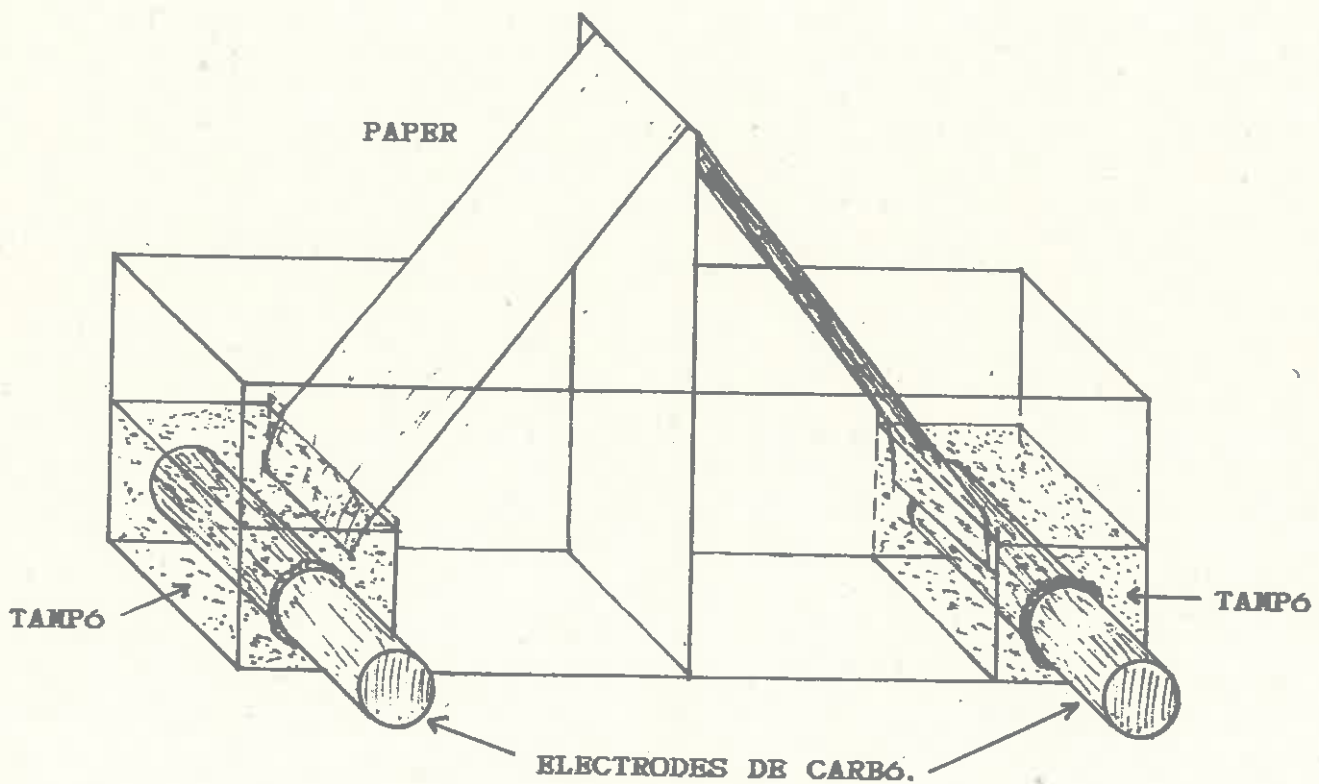


Es pot fer una cubeta per a electroforesi amb una capsa de plàstic transparent tal com es veu al dibuix. Convé que es pugui tancar i que hi càpiga un paper de 20x5 cm.

Els diferents compartiments es poden fer amb metacrilat encolat amb una pistola de cola termofusible o qualsevol adhesiu per a plàstics rígids.

El paper es repenja per la línia on s'ha posat la mostra.

Lluís Nadal i Balandras.





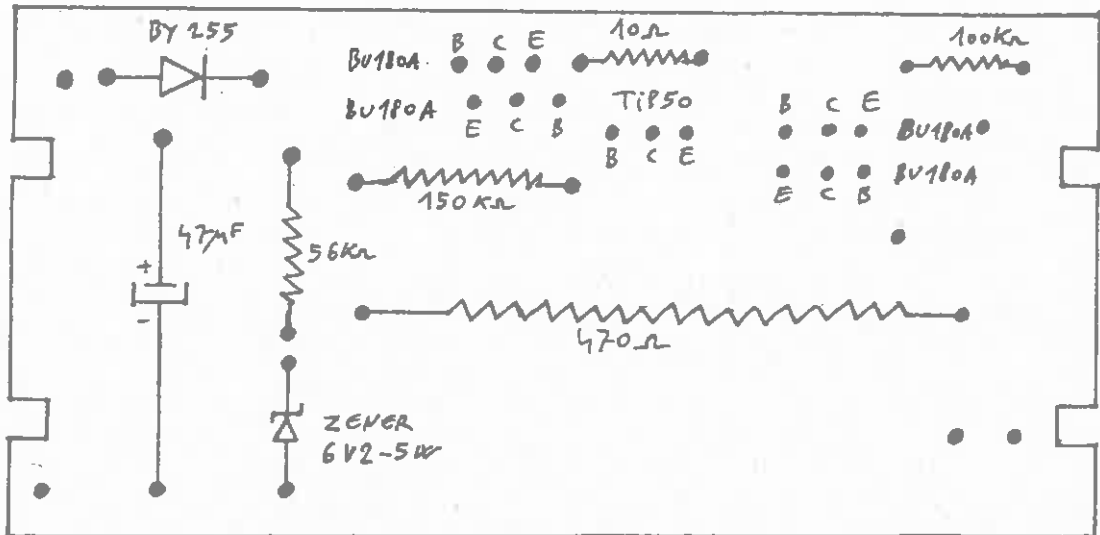
Generalitat de Catalunya

Departament d'Ensenyament

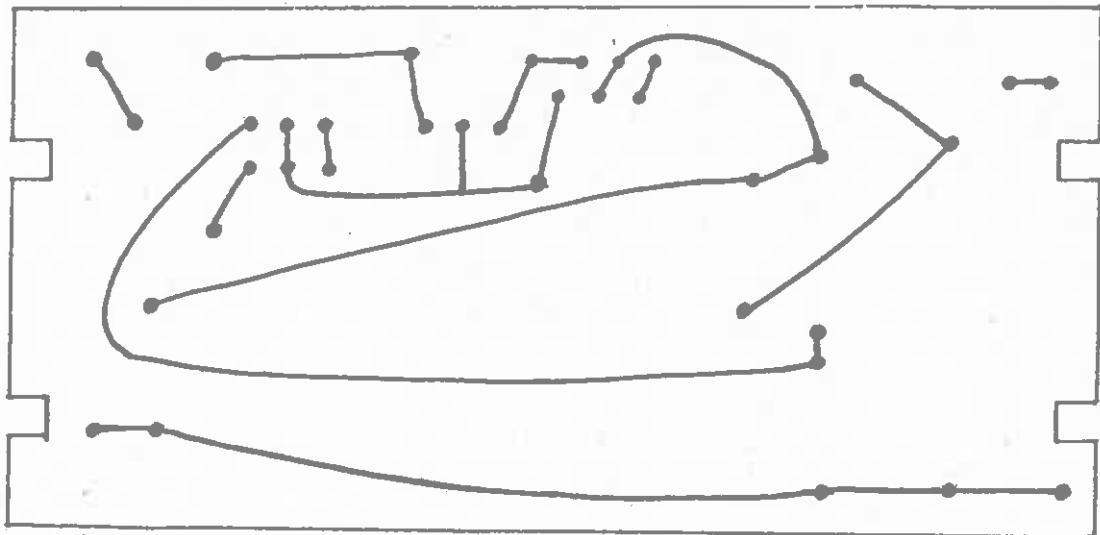
Centre de Recursos Pedagògics
del Segrià



CIRCUIT IMPRÈS: CARA DELS COMPONENTS.



CIRCUIT IMPRÈS: CARA DEL COURE.



S'ha de tenir en compte de no tocar la sortida de la font mentre funciona, no solament pel perill de la tensió de sortida si no també pel fet de que la fase de 220 V sempre és present en una de les dues sortides.



Generalitat de Catalunya
Departament d'Ensenyament
Centre de Recursos Pedagògics
del Segrà

zona de contacto coloreada. Si no aparece, agitar en la zona de contacto de los dos líquidos.

• Prueba del azufre

A un tubo con 3 ml de la disolución de cisteína 0,1 por 100, añadir 1 ml de NaOH 40 por 100 y 2 o 3 gotas de la disolución de acetato de plomo. Calentar al baño María durante 3 min. Observar los cambios de color que ocurren.

• Prueba de Sakaguchi

A un tubo con 5 ml de la disolución de arginina 0,02 por 100, añadir 1 ml de NaOH 2 M y 1 ml de la disolución etanólica de α -naftol 0,02 por 100. Mezclar bien y enfriar el tubo en hielo. Añadir entonces 1 ml de la disolución alcalina de hipobromito, mezclar bien y después de 30 s añadir 1 ml de la disolución de urea, que destruye el exceso de hipobromito. Observar los cambios de color.

12.3. Separación de aminoácidos por electroforesis en papel. Fundamento.

La separación cuantitativa y la valoración de cada aminoácido en una mezcla compleja, como el hidrolizado de una proteína, constituye un problema difícil cuando se ataca por los métodos clásicos de separación, tales como la precipitación fraccionada, la cristalización o la destilación. El desarrollo de métodos analíticos, tales como la cromatografía o la electroforesis han permitido obtener gran velocidad, precisión y sensibilidad en la separación e identificación de mezclas de aminoácidos (Capítulos 2 y 3).

La separación, identificación y valoración cuantitativa de los diferentes aminoácidos, son etapas necesarias en la determinación de la composición de aminoácidos y en la secuenciación de las proteínas, y se basan primordialmente en su conducta ácido-base.

En la electroforesis sobre papel se coloca una gota de una disolución de la mezcla de aminoácidos sobre una hoja de papel de filtro adecuada, la cual se humedece a continuación con un tampón de un pH determinado. Los extremos de la hoja se sumergen en los recipientes que contienen los electrodos y se aplica un campo eléctrico. Al final del proceso los diferentes aminoácidos se habrán movido hacia un electrodo u otro según el signo de la carga que tengan. Si el pH del medio coincide con el punto isoeléctrico (pI) del

aminoácido, éste no se moverá. La identificación de los aminoácidos se realiza por medio de la reacción de la ninhidrina.

12.4. Experimentación

12.4.1. Material y reactivos

- Fuente de corriente continua para electroforesis.
- Cubetas de electroforesis sobre papel, con electrodos.
- Cubetas para revelador.
- Secador de aire.
- Atomizador.
- Capilares.
- Pinzas.
- Papel Whatman n.º 1.
- Estufa de 100 °C.
- Ácido aspártico 0,5 por 100.
- Lisina 0,5 por 100.
- Leucina 0,5 por 100.
- Tampón de pH 6,1: 10 ml de piridina más 0,8 ml de ácido acético glacial y enrasar con agua hasta 250 ml.
- Disolución de ninhidrina: 200 mg en 100 ml de acetona.

12.4.2. Procedimiento

Doblar el papel por la mitad usando pinzas (*evitando el contacto con las manos*) y en la arista colocar, empleando sendos capilares, los aminoácidos patrones y la mezcla problema. Dejar separaciones adecuadas entre las aplicaciones. Rocíar el papel con disolución tamponadora. Poner tampón también en la cubeta de electroforesis. Colocar el papel en la misma y cerrar. Conectar la fuente de corriente (*conózcase su funcionamiento*) y dejar una hora.

Desconectar la fuente de corriente. Con el secador, secar el papel tras sacarlo de la cubeta. Pulverizar el papel con la disolución de ninhidrina. Llevar el papel a la estufa y tener un par de minutos a 100-105 °C. Examinar las manchas y sacar conclusiones.

Generalitat de Catalunya
Departament d'Ensenyament

Centre de Recursos Pedagògics
del Segon

FIGURA 4-2
Aminoácidos con grupos R no polares, aparecen las formas ionizadas que predominan de pH 6.0 a 7.0.

Grupos R	
Alanina Ala A Pm = 89	CH ₃
Valina Val V Pm = 117	CH(CH ₃) ₂
Leucina Leu L Pm = 131	CH ₂ CH(CH ₃) ₂
Isoleucina Ile I Pm = 131	CH(CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃)
Prolina Pro P Pm = 115	5-membered ring with nitrogen
Fenilalanina Phe F Pm = 165	CH ₂ CH ₂ Ph
Triptófano Trp W Pm = 204	CH ₂ CH ₂ Indole
Metionina Met M Pm = 149	CH ₂ CH ₂ S(CH ₃)

FIGURA 4-3
Aminoácidos con grupos R polares, sin carga.

Grupos R	
Glicocola Gly G Pm = 75	H
Serina Ser S Pm = 105	HO-CH ₂
Treonina Thr T Pm = 119	CH(OH)CH ₃
Cisteína Cys C Pm = 121	HS-CH ₂
Tirosina Tyr Y Pm = 181	CH ₂ CH ₂ Ph
Asparagina Asp N Pm = 132	NH ₂ -C(=O)-CH ₂
Glutamina Gln Q Pm = 146	NH ₂ -C(=O)-CH ₂ -CH ₂

FIGURA 4-4
Aminoácidos con grupos polares cargados a pH 6.0-7.0.

Grupos R	
Aminoácidos ácidos (cargados negativamente a pH 6.0)	
Acido aspártico Asp D Pm = 133	COO ⁻ CH ₂
Acido glutámico Glu E Pm = 147	COO ⁻ CH ₂ CH ₂
Aminoácidos básicos (cargados positivamente a pH 6.0)	
Lisina Lys K Pm = 146	(H ₃ N ⁺)CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂
Arginina Arg R Pm = 174	(H ₂ N ⁺)C(=NH)CH ₂ CH ₂
Histidina (a pH 6.0) His H Pm = 155	Imidazole ring



Generalitat de Catalunya
Departament d'Ensenyament

Centre de Recursos Pedagògics
del Segrà

FIGURA 4-2
Aminoácidos con grupos R no polares, aparecen las formas ionizadas que predominan de pH 6.0 a 7.0.

Grupos R	
Alanina Ala A Pm 89	CH ₃
Valina Val V Pm 117	CH(CH ₃) ₂
Leucina Leu L Pm 131	CH(CH ₃) ₂ CH ₂
Isoleucina Ile I Pm 131	CH(CH ₃)CH(CH ₃)CH ₂
Prolina Pro P Pm 115	II
Fenilalanina Phe F Pm 165	CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ NH ₂
Triptófano Trp W Pm 204	CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ NH ₂
Metionina Met M Pm 149	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃

FIGURA 4-3
Aminoácidos con grupos R polares, sin carga.

Grupos R	
Glicocola Gly G Pm 75	H
Serina Ser S Pm 105	HO-CH ₂
Treonina Thr T Pm 119	CH(OH)CH ₃
Cisteína Cys C Pm 121	HS-CH ₂
Tirosina Tyr Y Pm 181	HO-CH ₂
Asparagina Asn N Pm 132	NH ₂ CH ₂
Glicamina Gln Q Pm 146	NH ₂ CH ₂ CH ₂

FIGURA 4-4
Aminoácidos con grupos polares cargados a pH 6.0-7.0.

Aminoácidos ácidos (cargados negativamente a pH 6.0)

Grupos R	
Acido aspártico Asp D Pm 133	COO ⁻ CH ₂
Acido glutámico Glu E Pm 147	COO ⁻ CH ₂ CH ₂

Aminoácidos básicos (cargados positivamente a pH 6.0)

Grupos R	
Lisina Lys K Pm 146	(H ₃ N ⁺)CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂
Arginina Arg R Pm 174	H ₂ N-C(NH ₂)CH ₂ CH ₂ CH ₂
Histidina (a pH 6.0) His H Pm 155	HC ⁺ (NH ₂)CH ₂ CH ₂



Generalitat de Catalunya
Departament d'Ensenyament

Centre de Recursos Pedagògics
del Segon à
