Electroforesis en tiras de papel

La electroforesis es una técnica de separación de iones (o moléculas cargadas), en la que gracias a la aplicación de un campo eléctrico éstas se movilizan a lo largo de un material de apoyo, como consecuencia de la carga eléctrica que poseen. Las moléculas cargadas positivamente se desplazarán hacia el cátodo y las que están cargadas negativamente se irán hacia el ánodo.

La práctica consiste en observar el desplazamiento del permanganato (con carga negativa), del colorante azul de toluidina (con carga positiva) y de los componentes de la tinta de rotulador negro.

Materiales:

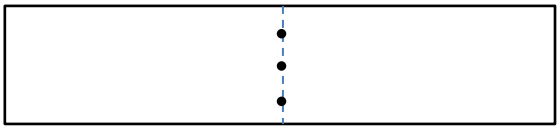
- Cubeta de electroforesis con puente plano,
- Una fuente de alimentación,
- Pipetas Pasteur de vidrio cortas
- Solución de electrolitos: Cloruro de sodio al 1 % (NaCl, sal de mesa; 10 g) y bicarbonato de sodio al 1 % (NaHCO3; 10 g) todo ello disuelto en 1 litro de agua
- Permanganato de potasio (KMnO4, 10 mM; 30 mg en 10 ml de agua),
- Azul de toluidina (10 mM; 31 mg en 10 ml de agua),
- Rotulador negro
- Papel de filtro,
- 1 lápiz.

Procedimiento:

a) Preparar la solución de electrolitos

b) Rellenar los dos depósitos de la cubeta de electroforesis con la solución de electrolitos sin que rebosen.

c) Cortar una tira de papel Watman de 15 cm x 3 cm, y trazar con el lápiz una raya muy fina en la mitad del lado más largo y marcar 3 puntos equidistantes en ella (ver la figura).



d) En dos de los puntos depositar una gota muy fina de las disoluciones de permanganato potásico y azul de toluidina. En el otro puntear con el rotulador negro varias veces para que se absorba la tinta

e) Colocar tira de papel sobre el puente de la cubeta de electroforesis de forma que queden los dos extremos sumergidos en los tanques laterales que contienen la solución de electrolitos. Colocar la bandeja encima.

f) Esperar a que el papel quede humedecido por capilaridad y conectar la fuente de alimentación a la cubeta, con un voltaje de entre 4 y 6 voltios/cm (para una longitud de 10 cm 50 voltios).

g) Dejar que se desarrolle la electroforesis durante 15-30 min

Cuestiones:

¿Hacia dónde se mueve el permanganato? ¿Y la toluidina?

¿Cuál se mueve más rápido? ¿Porqué?

¿Cuántos componentes se observan en la tinta de rotulador? ¿Porqué algunos de los componentes de la tinta no se desplazan?

¿Qué función tienen el cloruro sódico y el bicarbonato potásico?

Cromatografía en tiras de papel

La Cromatografía es una técnica de separación de sustancias, basada en la competencia entre la solubilidad de las sustancias en un disolvente (llamado fase móvil) y su adsorción a un soporte (fase fija o estacionaria). Hay varios tipos de cromatografías dependiendo del tipo de fase móvil (líquida o de gases), de la fase estacionaria (papel alúmina, gel de sílice, etc.) o del tipo de soporte usado para mantener la fase estacionaria (papel, placa, columna, etc). En general, las cromatografías en papel o placa se realizan en vertical y pueden ser ascendentes o descendentes, para aprovechar también los efectos que la gravedad tiene sobre la fase móvil.

En la práctica, primero vamos a realizar dos cromatografías verticales ascendentes en papel para separar los distintos componentes de diferentes tipos de tintas, bajo la acción de dos tipos diferentes de fase móvil. Luego realizaremos otra para separar aminoácidos presentes en el sudor. En ésta última, la detección de los aminoácidos se realizará utilizando el reactivo ninhidrina, específico para este tipo de moléculas.

Materiales:

- Vasos de precipitados
- Pipetas Pasteur de vidrio cortas
- Gomas elásticas
- Papel Watman
- Papel de aluminio
- Frascos pulverizadores
- 1 lápiz.
- Bastoncillos de algodón
- Disolventes (fases móviles): n-butanol, ácido acético.
- Solución de ninhidrina (1% en etanol)
- Rotuladores indelebles negro, azul, rojo y verde.
- Placa calefactora
- Guantes de látex
- (opcional) Secador de pelo

Procedimiento:

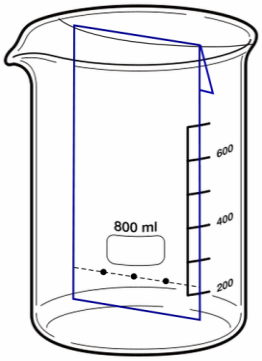
Primera parte

h) Se usarán dos fases móviles:

a. Agua b. Ácido acético al 20%

i) Rellenar los vasos de precipitados hasta una altura de 1 cm con la fase móvil correspondiente, poner una goma elástica de forma que cruce la boca del vaso y taparlos con un trozo de papel de aluminio cada uno.

j) Cortar tres tiras de papel Watman de 12 cm x 5 cm *(**¡es necesario usar guantes!**)*. Trazar en ellas, con el lápiz, una raya muy fina a 2,5 cm de uno de los extremos y marcar 4 puntos equidistantes en ella. En el otro extremo doblar el papel a una distancia de **3** cm del borde (ver las figuras). Reservar una de las tiras para la segunda parte.



k) Puntear levemente en cada uno de los puntos con los rotuladores negro, azul, rojo y verde. Esperar 5 min a que se seque la tinta.

l) Colgar la tira de papel de la goma, dentro del vaso, de manera que el papel llegue al fondo del vaso. Tapar con el papel de aluminio y dejar desarrollar la cromatografía hasta que el disolvente (fase móvil) alcance una altura de 6 o 7 cm.

m) Una vez alcanzada la altura retirar la tira de papel y secarla en horizontal sobre un trozo de papel de aluminio con ayuda de un secador eléctrico.

n) Anotar el comportamiento de los distintos tipos de tinta

Segunda parte (se puede hacer mientras se desarrolla la primera parte)

a) La fase móvil (butanol:acético:agua; 4:1:1) será preparada por el profesor.

b) Con guantes, doblar la tercera tira de papel por la línea de lápiz, donde se colocan las muestras, y frotar la arista doblada con la piel, (en la palma de la mano o en la base del pelo). Hacer lo mismo con otro trozo cualquiera de papel watman.

c) Estirar la tira de papel y proceder como en el apartado e) de la primera parte.

d) Una vez seca, pulverizar la solución de ninhidrina sobre la tira de papel y sobre el otro trozo de papel. Pulverizar también sobre un tercer trozo de papel limpio (servirá como control). Dejarlos secar y colocarlos sobre una placa calefactora. Observar lo que pasa.

Tercera parte (se puede hacer al mismo tiempo que el apartado d) de la segunda parte)

a) Cortar un cuadrado de papel Watman de 3 x 3 cm

b) Aplicar la yema de uno de los pulgares (¡sin guantes y sin presionar demasiado!) sobre el cuadrado de papel. Aviso: si se tienen las manos muy limpias y secas, frotar primero la yema del pulgar con la palma de la otra mano.

c) Pulverizar ninhidrina sobre el cuadrado de papel. Dejarlo secar durante unos minutos y colocarlo sobre la placa calefactora. Observar lo que pasa.

Cuestiones:

¿Cómo se comportan las manchas de tinta con el agua? ¿Y con la disolución de ácido acético?

¿Porqué se mueven poco las manchas con el agua? ¿Porqué sí se mueven en la fase de ácido acético?

¿Hay aminoácidos en el sudor?

¿Se puede saber cuántos y cuáles? ¿Porqué?

---------- O ---------- O---------- O ----------