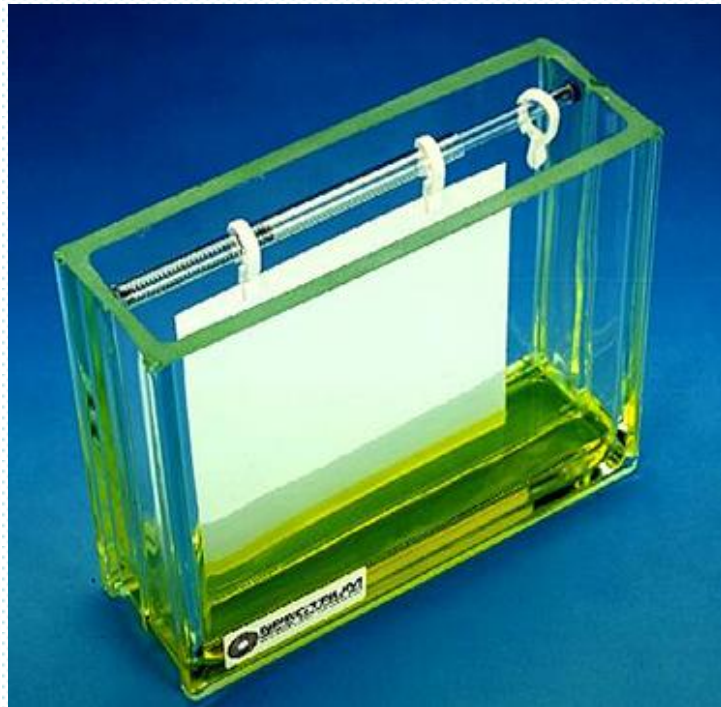


# 生物化学实验技术

## 实验二      氨基酸的纸层析

## 一、实验目的

掌握氨基酸纸层析的原理和方法，学习用纸层析分离、鉴定氨基酸的操作技术。



## 二、实验原理

纸层析法用滤纸作为支持物，展层溶剂是由水饱和的有机溶剂组成。将样品点在滤纸上进行展层，样品中的各种氨基酸即在二相中不断进行分配，由于它们各自的分配系数不同，故在流动相中移动速率 $R_f$ 不等，从而使不同的氨基酸得到分离和提纯。由于氨基酸无色，可利用茚三酮反应使氨基酸层析点显色，从而定性和定量。

## 三、实验仪器与试剂

1. 主要仪器                      层析缸、喷雾器

### 2. 试剂

#### (1) 各种氨基酸溶液

甘氨酸溶液: 25mg 甘氨酸 + 5mL 水

蛋氨酸溶液: 25mg 蛋氨酸 + 5mL 水

亮氨酸溶液: 25mg 亮氨酸 + 5mL 水

氨基酸混合液: 甘氨酸25mg + 亮氨酸25mg  
+ 蛋氨酸25mg + 5mL 水

(2) 展层溶剂: 正丁醇 : 冰乙酸 : 水 = 4 : 1 : 3(V/V)

(3) 显色液: 0.1%水合茚三酮正丁醇溶液

## 四、实验步骤

### 1. 画基线

在15cm × 14cm 滤纸上，距短边2 cm 处，用铅笔画一条线，即为基线。

### 2. 点样

在基线上，从距纸的长边4cm处开始，每隔3cm 用毛细管依次分别点上甘氨酸、亮氨酸、蛋氨酸和混合氨基酸溶液。每一点的直径不超过3mm。

### 3. 展层

将点好样的滤纸用线固定好，将基线的下端浸入展层剂中，盖好层析缸展层，当溶剂前沿距纸端3cm 时，取出滤纸。

### 4. 显色

滤纸取出后，吹干，均匀喷涂水合茚三酮显色液，静置1-2min，电风吹干即出现紫红色的氨基酸层析斑点。

## 五、结果与计算：

用铅笔描出显色斑点的形状，测量每一色斑中心与原点之间的距离和原点到溶剂前沿的距离，计算各色斑的Rf值。

$$R_f = \frac{\text{原点到层析斑点中心距离}}{\text{原点到溶剂前沿的距离}}$$

## 六、作业

- 请详述氨基酸纸层析的原理和用途