

Separação de Aminoácidos por Cromatografia em Camada Fina – TLC

Objetivos Didáticos

- Demonstrar a técnica de separação de aminoácidos com base em sua polaridade e interação com as fases cromatográficas.
 - Compreender o princípio físico-químico da cromatografia como método de separação e análise.
 - Interpretar os resultados por meio do **fator de retenção (Rf)**.
 - Discutir a aplicação dessa técnica em **engenharia de alimentos, bioprocessos, controle de qualidade e purificação de compostos biológicos**.
-

Materiais e Reagentes

- placas de TLC (sílica gel)
 - Aminoácidos-padrão: glicina, alanina, tirosina (soluções aquosas ~1%)
 - Solução de peptídeos obtidos da hidrólise enzimática da proteína da castanha-do-Pará
 - Solvente revelador: mistura de **n-butanol : ácido acético glacial : água (4:1:1)** (fase móvel)
 - Câmara cromatográfica (frasco de vidro com tampa ou pote hermético)
 - Capilares ou micropipetas
 - Lápis (não usar caneta)
 - Régua
 - Ninhidrina (1% em etanol ou acetona) – reagente revelador
 - Pincel ou spray para aplicar a ninhidrina (ou algodão embebido)
 - Estufa ou secador para aquecimento (~100 °C)
 - Luvas, óculos de proteção, jaleco
-

Procedimento Experimental

1. Preparação da fase estacionária

- Corte tiras retangulares da placa cromatográfica (~10 x 5 cm).
- Com lápis, marque **uma linha base horizontal a 1 cm da borda inferior**. Não use caneta.
- Identifique os pontos de aplicação (ex: G = glicina, A = alanina, T = tirosina).

2. Aplicação das amostras

- Com capilar ou micropipeta, aplique uma gota pequena de cada solução de aminoácido na linha base.
- Espere secar e repita (duas ou três vezes) para concentrar os pontos.

3. Desenvolvimento cromatográfico

- Coloque a placa cuidadosamente na câmara contendo o solvente (nível do solvente deve estar **abaixo da linha de aplicação**).
- Feche a câmara e aguarde até o solvente subir ~8 cm (30–40 minutos).
- Retire a placa e marque rapidamente o **frente do solvente** (linha até onde o solvente subiu).
- Deixe secar ao ar.

4. Revelação com ninhidrina

- Pulverize ou pincele a placa com **reagente de ninhidrina**.
- Leve à estufa ou aqueça com secador até que apareçam **manchas roxas ou azuladas**, indicando os aminoácidos.

Análise dos Resultados

Cálculo do fator de retenção (Rf):

$R_f = \frac{\text{distância percorrida pela substância}}{\text{distância percorrida pelo solvente}}$

distância percorrida pelo solvente

- Meça as distâncias de cada mancha até a linha de base e a distância total percorrida pelo solvente.
- Calcule os valores de Rf e registre em tabela.

Tabela sugerida:

Aminoácido	Cor da mancha	Distância da mancha (cm)	Distância do solvente (cm)	Rf
Glicina	Roxa clara	2,5	10	0,25
Alanina	Roxa	3,0	10	0,30
Tirosina	Roxa escura	1,5	10	0,15

Discussão

Por que os aminoácidos se separaram? → Polaridade e tamanho molecular afetam a afinidade com a fase estacionária e solubilidade na fase móvel.

- **Como essa técnica é aplicada em engenharia?**

- **Engenharia de alimentos:** verificação da composição de aminoácidos em suplementos, proteínas vegetais hidrolisadas.
- **Engenharia de bioprocessos:** monitoramento da liberação de aminoácidos em fermentações.
- **Engenharia farmacêutica:** purificação e caracterização de compostos bioativos.
- **Controle de qualidade:** análise de matéria-prima proteica e contaminantes.

Conclusão

- A cromatografia em papel ou camada fina é uma técnica simples, eficiente e acessível para separar e identificar aminoácidos.
 - A prática reforça conceitos de polaridade, afinidade e mobilidade molecular – essenciais em processos de separação na engenharia.
 - Essa técnica é frequentemente utilizada para triagens rápidas, identificação de compostos e otimização de processos.
-