

**DOSAGE DES ACIDE AMINÉS PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE :
MÉTHODE À LA NINHYDRINE**

1 Mode opératoire

Le réactif utilisé ici pour la mise en évidence des acides aminés contient entre autre deux produits hautement toxiques :

La ninhydrine : R 22-36/37/38

Le méthylcellosolve (éthylène glycol monoéthyl
éther) : R 60-61-10-20 S 45-53



En conséquence, en fonction des concentrations des divers composés présents, le réactif à la ninhydrine doit être étiqueté :



R60-61
Toxique pour la reproduction
(fertilité et développement)

1.1 Gamme d'étalonnage

A partir d'une solution mère d'alanine à 6,00 mmol/L, préparer 100 mL de solution fille à 0,300 mmol/L.

Réaliser en tubes à essais une gamme d'étalonnage de 6 tubes numérotés de 0 à 5 selon les indications suivantes :

x Solution fille d'alanine : 0 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, 1 mL.

x Eau distillée qsp 1 mL.

x Réactif à la ninhydrine : 1 mL par tube

Boucher les tubes avec du coton cardé recouvert de papier d'aluminium.

Porter au bain-marie bouillant pendant 15 minutes : **SOUS LA HOTTE**

Refroidir dans un bain d'eau glacée, puis ajouter :

x Solution éthanol/eau : 5 mL par tube.

Homogénéiser le contenu des tubes.

Lire immédiatement les absorbances à 570 nm en réglant le spectrophotomètre au 0 sur le témoin réactif.

1.2 Solution à doser

Opérer de manière identique sur deux prises d'essai de 0,5 mL et 1,0 mL de solution à doser.

2 Expression des résultats

x Donner les résultats expérimentaux sous forme d'un tableau rappelant la composition de chaque tube (gamme d'étalonnage et essais) et donnant la quantité d'alanine en μmol par tube ainsi que les absorbances lues au spectrophotomètre.

x Tracer la courbe absorbance à 570 nm en fonction de la quantité d'alanine en μmol par tube.

x Déterminer pour chacun des essais la concentration molaire en alanine.

x Effectuer la moyenne si l'erreur est inférieure à 2 pour cent.

x Tous les calculs effectués seront démontrés.