

**LOUIS GENEVOIS**

# **TRAITÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE**

**Aminoacides — Protéines — Protéases — Nucléines  
Porphyrines — Enzymes respiratoires**



**PRESSES UNIVERSITAIRES  
DE FRANCE**

« ÉUCLIDE »  
INTRODUCTION AUX ÉTUDES SCIENTIFIQUES

CHIMIE  
SECTION DIRIGÉE PAR LOUIS HACKSPILL

# TRAITÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE

par

**Louis GENEVOIS**

*Professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux*

TOME PREMIER

AMINOACIDES — PROTÉINES — PROTÉASES  
NUCLÉINES — PORPHYRINES  
ENZYMES RESPIRATOIRES



PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE  
108, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

—  
1957

DU MÊME AUTEUR

*Métabolisme et fonction des cellules*, Masson, 1931.

**TRAITÉ DE  
CHIMIE BIOLOGIQUE**

par LOUIS GENEVOIS

TOME I

**Aminoacides — Protéines — Protéases**

**Nucléines — Porphyrines**

**Enzymes respiratoires**

TOME II

**Substances minérales**

**Glucides — Lipides — Stérides**

**Vitamines**

**Fermentations**

**DÉPOT LÉGAL**

1<sup>re</sup> édition . . . . 4<sup>e</sup> trimestre 1957

**TOUS DROITS**

de traduction, de reproduction et d'adaptation  
réservés pour tous pays

© *Presses Universitaires de France*, 1957

## PRÉFACE

Avant de commencer un traité de chimie biologique, il est utile d'expliciter les hypothèses plus ou moins intuitives qui ont permis à la chimie biologique de se constituer en un siècle et demi.

La première hypothèse de base est très simple : tout phénomène physiologique a un support, une cause matérielle spécifique, isolable, susceptible d'être décrite en termes de chimie, en d'autres termes une substance ou, tout au moins, une famille de substances spécifiques et caractéristiques. Cette hypothèse a conduit la chimie biologique de succès en succès.

Ce fut d'abord la découverte des aminoacides des protéines ; la découverte du tryptophane par F. G. HOPKINS en 1903, cinquante ans après que Claude BERNARD eût décrit une réaction colorée spécifique de cette substance, puis la découverte de la thréonine, par ROSE et ses collaborateurs en 1936, comme aminoacide indispensable à la croissance, sont des exemples particulièrement probants.

Ce fut ensuite la découverte des vitamines ; les facteurs antibériberique de EYKMAN (1896), le facteur antiscorbutique de HOLST et FROHLICH (1905), le facteur de croissance liposoluble de HOPKINS (1906) deviennent, entre 1930 et 1940, des substances chimiques parfaitement définies, reproduites de synthèse à l'échelle industrielle — 18 vitamines sont aujourd'hui chimiquement décrites.

Puis vinrent les hormones ; l'adrénaline fut la première isolée (TAKAMINE et ALDRICH, 1901) ; les hormones sexuelles,

décrites physiologiquement par GLEY et PEZARD dès 1912, furent décrites chimiquement, puis reproduites de synthèse par BUTENANDT, DOISY, LAQUEUR et bien d'autres, de 1930 à 1940, puis vinrent les hormones de l'écorce des surrénales (I. REICHSTEIN, 1936-1950).

L'isolement des ferments, à l'état cristallisé, réussit entre les mains de SUMNER, de NORTHROP, de WARBURG, de 1926 à 1943 ; la description des coferments solubles qui n'agissent qu'en liaison avec des protéines spécifiques bien définies fut réalisée en même temps. Le rôle des nucléotides à pyrophosphate, de l'acide adényltriphosphorique, apparut fondamental dans le métabolisme cellulaire. Mais l'isolement des ferments cristallisés, bientôt suivi de la cristallisation des virus, apprit que la spécificité en chimie biologique s'étend, non seulement aux substances de faible poids moléculaire (aminoacides, vitamines, beaucoup d'hormones) mais encore aux substances de poids moléculaire très élevé.

Cette spécificité est parfaitement compatible avec un comportement des grosses molécules conforme aux lois les plus classiques de la chimie physique, comme l'annoncèrent J. LOEB, PAULI, vers 1920-1933.

L'isolement des protéines spécifiques s'étendit bientôt au corps humain, avec le fractionnement remarquable des protéines sériques, réalisé par COHN, EDSALL, de 1943 à 1948. La mise en pièces détachées du sérum humain, pièces qui conservent leurs propriétés fermentaires, immunologiques, spécifiques, est une victoire remarquable de l'hypothèse matérialiste.

Les éléments minéraux jouent un rôle essentiel dans beaucoup de ferments ; ce fait, découvert par Gabriel BERTRAND, dès 1897, est devenu après quelques années une des notions fondamentales de la biochimie moderne ; après le fer, le cuivre, l'iode, le manganèse, le zinc, le cobalt, le bore, le molybdène ont pris place parmi les substances indispensables aux êtres vivants, avec des fonctions précisées et spécifiques de chaque métal. La présence

de cobalt dans la vitamine B<sub>12</sub>, la plus puissante de toutes les vitamines, a établi un pont remarquable entre la chimie des vitamines et celle des oligoéléments.

Citons pour mémoire les antibiotiques, dont il ne pourra être question dans le cadre de cet ouvrage élémentaire ; plusieurs centaines d'antibiotiques ont été isolés à l'état cristallisé, définis chimiquement, avec des spécificités biologiques très variées.

La deuxième hypothèse, qui s'est dégagée petit à petit des faits observés, est celle de mécanismes biochimiques communs aux animaux et aux végétaux. Claude BERNARD, sur des données extrêmement sommaires, avait déjà proclamé, il y a un siècle, l'existence d'un fond commun de phénomènes chez végétaux et animaux. Petit à petit, grâce à des chercheurs comme EMBDEN, KEILIN, O. MEYERHOF, O. WARBURG, H. A. KREBS, K. LOHMANN, E. LIPMANN, toute une série de phénomènes communs aux animaux et aux végétaux ont été décrits : le mécanisme de la fermentation glucidique, celui de la respiration cellulaire, le rôle de l'adényltri-phosphate dans les synthèses cellulaires, pour n'en citer que quelques-uns. Il n'est pas jusqu'à l'assimilation chlorophyllienne, où les travaux de CALVIN n'aient retrouvé toute une série de mécanismes décrits à propos de la fermentation glucidique. L'emploi des isotopes marqués a permis des progrès immenses dans l'étude de la formation des diverses molécules caractéristiques : la formation des acides nucléiques, celle des dérivés porphyriques, ont pu enfin être comprises ; il s'agit ici encore de phénomènes universels, communs à toutes les cellules animales et végétales.

Il résulte de ce contexte historique que l'étude de la biochimie générale doit être abordée avec des préoccupations essentiellement physiologiques ; les propriétés chimiques des corps ne nous intéressent que dans la mesure où elles expliquent leurs aptitudes à réagir dans l'organisme. La distinction entre une statique et une dynamique chimique est pour nous la distinction entre la chimie organique et la chimie biologique. La

chimie biologique est la chimie de substances constamment en train de réagir, de se former et de se détruire. Chaque substance doit être décrite en rapport avec son rôle physiologique, avec son mode de formation. Les ferments seront ainsi décrits, le plus souvent, à propos des substances qu'ils transforment.

L'expérience acquise dans trente années d'enseignement à la Faculté des Sciences de Bordeaux m'a montré que ce mode d'exposition avait le don d'intéresser les étudiants. Je souhaite qu'il intéresse le lecteur ; je m'excuse auprès de lui des lacunes qu'il pourra constater, par rapport à d'autres traités ; il a fallu faire un choix pour se maintenir dans le cadre de cette collection, qui se veut synthétique, vivante, moderne, riche d'idées, plutôt qu'encyclopédique.

M. Jacques BARAUD, chef de travaux à la Faculté des Sciences de Bordeaux, a, depuis dix ans, pour les besoins de l'enseignement théorique et pratique, refait un grand nombre de dosages classiques d'acides aminés, libres ou combinés, et proposé quelques dosages nouveaux, qui permettent de titrer quelques-uns des groupes fonctionnels des protéines.

Qu'il soit remercié ici.

## CHAPITRE PREMIER

### LES AMINOACIDES

#### Propriétés générales de la fonction $\alpha$ aminée

##### § 1. Aminoacides, protéines, ferments et substance vivante. —

L'hydrolyse acide ou alcaline des matières protéiques (muscle, caséine, gluten, etc.), livre des molécules très simples, ayant de 2 à 11 atomes de carbone, 1 à 4 atomes d'azote, ayant une fonction acide, et en  $\alpha$  de cette fonction, une fonction amine : ce sont les aminoacides. Ce sont des corps blancs, cristallisés, à point de fusion très élevé (vers 300°), très stables vis-à-vis de l'hydrolyse acide ou alcaline en général (il y a cependant 3 aminoacides instables en milieu acide).

Une molécule de protéine contient généralement 18 aminoacides différents ; cette apparente complication ne doit pas masquer trois faits fondamentaux et tout à fait généraux :

1° Les protéines animales et les protéines végétales sont constituées par les mêmes aminoacides, en proportions du même ordre. Ceci est vrai non seulement pour les plantes à fleurs, nourriture des Herbivores, mais encore pour les algues, même unicellulaires (qui ont été proposées comme fourrages) et pour les champignons (les levures ont été proposées comme aliment azoté de qualité pour le bétail).

2° Les animaux, tout particulièrement les Vertébrés, sont incapables de faire la synthèse de 11 sur 18 des aminoacides fondamentaux, ils sont donc astreints à trouver quotidiennement

ces 11 aminoacides dans leur alimentation. L'animal est donc fait des aminoacides élaborés par les végétaux.

3° Les végétaux, même les plus simples (levures, algues unicellulaires) font rapidement la synthèse de tous les aminoacides : la synthèse des aminoacides est donc une propriété commune à toutes les cellules végétales, indépendamment de l'assimilation chlorophyllienne.

Ces faits fondamentaux, connus depuis 50 ans, sont à la base de la science de la nutrition animale, et donnent à la connaissance individuelle des aminoacides une grande importance. D'autres faits, moins bien compris jusqu'ici, achèvent de donner aux aminoacides une place de premier plan dans la chimie des êtres vivants.

L'essentiel d'un être vivant est fait de molécules de protéines, qui contiennent de 300 à 1 000 aminoacides. Les transformations chimiques dont les cellules vivantes sont le siège, sont catalysées, guidées, par des enzymes ; or ces enzymes sont tous des protéines, de structure caractéristique pour chaque enzyme.

La structure des protéines, les aptitudes réactionnelles des protéines, constituent donc un chapitre essentiel de la structure des êtres vivants. Or, les protéines sont constituées uniquement d'acides aminés disposés dans un ordre déterminé pour chaque protéine.

Un acide aminé possède typiquement deux fonctions :

a) La fonction  $\alpha$  aminée, qui sert uniquement à lier les acides aminés les uns aux autres dans les protéines.

b) Une fonction dite «  $\omega$  », c'est-à-dire à l'extrémité distale de la molécule, par rapport à la fonction  $\alpha$  aminée. Cette fonction  $\omega$ , acide, base, phénol, indol, alcool, etc., caractérise chaque acide aminé. Les fonctions  $\omega$  des acides aminés combinés dans les protéines sont généralement libres, fonctionnelles, titrables, sans destruction de la protéine. Les fonctions chimiques d'une molécule protéique sont donc multiples ; elles sont données par les groupes  $\omega$  des divers acides aminés constituants.

Une connaissance exacte et très précise des propriétés des divers aminoacides, notamment de leurs groupes  $\omega$ , est donc indispensable pour comprendre les propriétés chimiques et physiques (solubilité, etc.) des protéines.

Les aminoacides ne sont pas tous engagés dans des protéines ; certains donnent naissance à des dérivés plus simples ; les alcaloïdes chez les végétaux, des hormones azotées comme l'histamine, l'adrénaline chez les Vertébrés. Il y a grand intérêt à étudier ces substances à propos des aminoacides qui leur donnent naissance.

Certains aminoacides ont par eux-mêmes des propriétés catalytiques : l'arginine par exemple, qui stimule la production d'urée dans le foie. L'ingestion de protéines stimule ainsi, sitôt qu'elles sont digérées, automatiquement la formation d'urée dans l'organisme.

Les aminoacides sont donc à la fois les pierres dont est construit l'édifice de la cellule vivante, et les matériaux dont la cellule fait ses outils, les catalyseurs et les ferments. Une connaissance précise des aminoacides est donc le fondement, non seulement de nos connaissances de la nutrition, de nos connaissances des protéines, mais encore de beaucoup de problèmes de la physiologie humaine ; les problèmes du muscle, de la circulation sanguine, avec ses vasodilatations et vasoconstrictions, locales ou générales, se rattachent naturellement à la chimie des aminoacides.

Nos connaissances sur la chimie des aminoacides se sont édifiées lentement, fragments par fragments, durant tout le cours du XIX<sup>e</sup> siècle, d'abord en France, de 1802 à 1860, puis en Allemagne, en Angleterre ; nos connaissances sur les protéines et la nutrition se sont édifiées aux États-Unis, en Angleterre, au début de ce siècle. La physiologie des dérivés des aminoacides (adrénaline, histamine principalement) a été décrite par l'École anglaise d'ELLIOTT et de DALE de 1900 à 1940.

La physicochimie précise des protéines a été fondée par LOEB aux États-Unis, et par PAULI à Vienne, vers 1920. Cette science est encore en pleine évolution.

§ 2. **Propriétés physiques des aminoacides.** — Substances blanches, bien cristallisées, très solubles ou assez solubles dans l'eau.

Au goût, les aminoacides ne manifestent aucun goût acide (sauf les diacides), mais souvent un goût sucré (glycocolle, alanine).

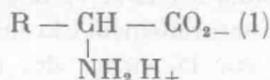
*Dissociation.* — La fonction acide et la fonction base en  $\alpha$  ne sont pas fonctionnelles en milieu neutre : elles se neutralisent réciproquement. Les solutions d'acides aminés ne comportant que la fonction  $\alpha$  aminée sont neutres. Cependant, ces solutions sont virtuellement acides ou basiques.

1° Si l'on ajoute un acide fort à une solution d'acide aminé, on voit apparaître un pouvoir tampon en milieu fortement acide, avec une constante de dissociation de  $pK = 2,3$  ; il y a en même temps un dégagement notable de chaleur.

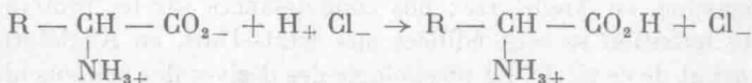
2° Si l'on ajoute une base forte à la solution, on voit apparaître un pouvoir tampon, correspondant à un  $pK$  de 10 ; il y a dégagement de chaleur, sensiblement égal à celui de la réaction :



L'acide aminé en milieu neutre est un ion amphotère



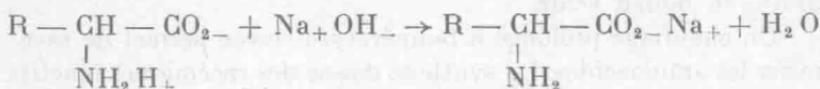
L'addition d'acide forme un chlorhydrate :



La constante de dissociation de  $pK$  2,3 est donc celle d'un acide fort (du même ordre que l'acide monobromacétique  $pK$  2,7).

(1) — est ici le signe de l'ion négatif.

L'addition de NaOH forme un sel de Na :



La constante de dissociation de pK 10 est donc celle du groupe  $\text{NH}_2$ , qui est une base forte.

La molécule d'acide aminé est donc fortement chargée, mais les charges électriques, très voisines, se neutralisent à grande distance de la molécule ; la molécule se comporte comme électriquement neutre vis-à-vis de la cellule vivante. Vis-à-vis du solvant dipolaire qu'est l'eau, la molécule est au contraire une molécule ionisée ; elle s'entoure d'une robe de molécules d'eau, comme tous les ions + et - ; la molécule est donc très soluble ; 2 acides aminés ne réagissent pas électriquement l'un sur l'autre.

Les propriétés de solubilité des protéines dépendent des groupes  $\omega$  acides ou basiques, qui sont libres ; la solubilité dans l'eau, même la mouillabilité par l'eau disparaissent si ces groupes acides ou bases sont absents (cas de la soie naturelle).

Le groupe  $\alpha$  aminé, dissymétrique, confère aux acides aminés le pouvoir rotatoire ; les acides simples ont un pouvoir rotatoire faible en milieu neutre ; les acides naturels ont un pouvoir rotatoire tantôt droit, tantôt gauche, qui est le même chez tous les êtres vivants.

L'isomère non naturel est inassimilable par l'animal, il n'entre pas dans la constitution des protéines ; par contre, il est rapidement détruit par les tissus animaux, 20 fois plus rapidement que l'isomère naturel.

Le pouvoir rotatoire du chlorhydrate, en milieu fortement acide, est 4 à 5 fois plus élevé que celui de la molécule amphotère.

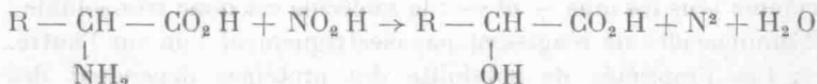
Sérine, phénylalanine, tyrosine, cystine, acide aspartique, histidine, proline, tryptophane, existent naturellement sous la forme gauche. Le pouvoir rotatoire varie considérablement avec l'acidité du milieu. L'acide aspartique, gauche en milieu

alcalin (aspartate de soude) est droit sous la forme de chlorhydrate, en milieu acide.

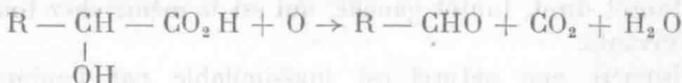
Un chauffage prolongé à température élevée permet de racémiser les aminoacides. La synthèse donne des racémiques inactifs par compensation, que l'on dédouble par l'acide tartrique actif.

§ 3. **Propriétés chimiques des aminoacides.** — Si la fonction  $\alpha$  aminée est insensible à l'hydrolyse acide ou alcaline, elle est très sensible aux oxydants, aux groupes carbonyles, ce qui rend son dosage relativement facile.

1<sup>o</sup> *Réaction de PIRIA, ou de VAN SLYKE* :  $\text{NO}_2\text{H}$ . — L'acide nitreux en milieu acide, détruit le groupe  $\text{NH}_2$  et le remplace par une fonction  $\text{OH}$  :



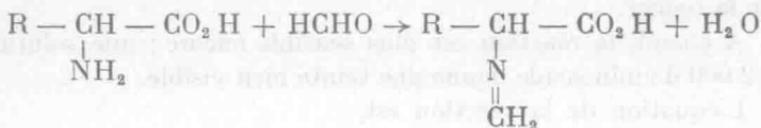
On peut faire tomber goutte à goutte une solution étendue de  $\text{NO}_2\text{Na}$  dans une solution sulfurique bouillante de l'acide. Le rendement en acide alcool est quantitatif ; on peut doser ensuite cet acide alcool, par exemple par oxydation par  $\text{MnO}_4\text{K}$   $\text{N}/200$  en aldéhyde à  $\text{N} - 1$  atome de carbone :



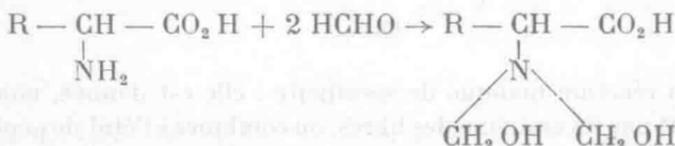
VAN SLYKE (1911) opère à froid, en milieu acétique très concentré, en milieu très concentré de  $\text{NO}_2\text{Na}$  :  $\text{N}_2$  dégagé, lavé des vapeurs nitreuses par  $\text{MnO}_4\text{K}$ , est mesuré volumétriquement.

2<sup>o</sup> *Réaction de SOERENSEN* : *titration alcalimétrique dans HCHO*. — SOERENSEN (1907) a montré que le formol concentré, neutre, ajouté à une solution neutre d'acides aminés (en pratique à  $\text{pH } 8,2$ , teinte rose de la phtaléine), met en liberté la fonction acide, titrable alors correctement par  $\text{NaOH}$   $\text{N}/10$  jusqu'à  $\text{pH } 9$ .

SOERENSEN admettait formation d'un dérivé méthylénique :



Ce dérivé méthylénique n'a jamais été isolé ; il se forme sans doute en milieu acide ; en milieu neutre, le grand excès et la concentration élevée en HCHO nécessaires pour rendre la réaction quantitative, rendent plus vraisemblable la formation d'un dérivé diméthylolé :



La titration n'est en effet correcte qu'en milieu au moins N en HCHO.

WALDSCHMIDT-LEITZ a pu montrer qu'en milieu d'éthanol presque pur (97%) les aminoacides pouvaient se titrer directement à la soude, avec la phtaléine du phénol.

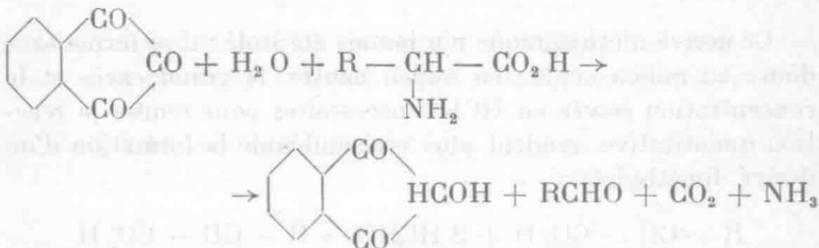
Les sels ammoniacaux réagissent avec HCHO, pour donner l'hexaméthylènetétramine  $(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$  avec libération des acides correspondants : il faut donc éliminer (en présence de  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  à 40°, dans un courant d'air), les ions  $\text{NH}_4$  du milieu pour pouvoir titrer les aminoacides selon SOERENSEN. Il faut éliminer de même les phosphates.

3° Réaction de la ninhydrine. — La ninhydrine, ou tricéthohydrindène, oxyde les aminoacides, même à froid, avec départ de  $\text{NH}_3$ , de  $\text{CO}_2$  et apparition d'aldéhydes ; la solution prend une coloration violette. Cette réaction est d'une grande sensibilité ; elle s'applique remarquablement aux aminoacides répartis sur papier, soit que le papier ait été imprégné de la sueur des doigts,

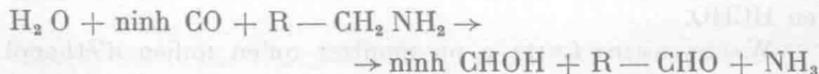
soit que les aminoacides se soient répandus par chromatographie sur le papier.

A chaud, la réaction est plus sensible encore ; une solution M/2 000 d'acide donne une teinte bien visible.

L'équation de la réaction est :



La réaction manque de spécificité : elle est donnée, non seulement par les aminoacides libres, ou combinés à l'état de peptides, mais encore par les amines simples ou combinées, et par les protéines.



La méthode ne s'applique donc qu'à des solutions purifiées ; elle n'a pris d'importance que depuis que l'on sait séparer les divers aminoacides par chromatographie. La ninhydrine s'emploie en solution à 1 % ou 1‰ ; la réaction se fait en milieu neutre, ou légèrement acétique.

§ 4. **Séparation des aminoacides. Chromatographie.** — La séparation des aminoacides a pendant longtemps été une opération longue et difficile, réservée à quelques spécialistes. L'étude quantitative des aminoacides d'une protéine déterminée était considérée, il y a 30 ans encore, comme l'opération la plus difficile de la chimie biologique ; on publiait des analyses où 20, 30, parfois 40 % de la substance analysée n'étaient pas retrouvés. Depuis

cette époque, les techniques chimiques ont été perfectionnées, rendues quantitatives ; les analyses, faites au début sur 100 g et plus, ont été faites sur 0,1 g. La chromatographie sur papier a fourni des résultats très rapides, semi-quantitatifs.

L'hydrolyse acide des protéines est souvent longue : 10 à 24 h d'ébullition dans HCl 10 N, ou 3 à 7 h d'autoclave à 120°. La méthode a l'inconvénient grave de détruire le tryptophane, les oxyaminoacides ; le milieu noircit. La méthode ne donne qu'une première approximation.

L'analyse d'un mélange d'acides aminés livre des acides vrais, des bases vraies, et des acides aminés amphotères simples ; l'électrophorèse permet de séparer ces 3 groupes de substances ; dans une cuve d'électrolyse à 3 compartiments séparés par une membrane poreuse, laissant passer les acides aminés, les acides vont vers l'anode, les bases passent dans le compartiment cathodique, les corps neutres restent au milieu. Des résines synthétiques échangeuses d'ions permettent de faire une séparation analogue ; lorsque l'échangeur est bien réversible, l'opération peut être conduite quantitativement.

Les techniques anciennes précipitaient les bases par l'acide phosphotungstique, les acides par la baryte en milieu alcoolique fort. Ces techniques sont toujours utilisables.

Les acides aminés simples étaient autrefois transformés en esters méthyliques ; une distillation fractionnée sous vide séparait les esters. La méthode était pénible ; les points d'ébullition des esters étant très élevés, ou le vide nécessaire très profond.

Il est beaucoup plus simple d'oxyder ces acides aminés par  $\text{NO}_2\text{H}$  en acides alcools, d'oxyder ces alcools par  $\text{MnO}_4\text{K}$  en aldéhydes, voire en cétone (valine). Les aldéhydes peuvent se fractionner aisément (FROMAGEOT et HEITZ).

La chromatographie repose sur le principe suivant : l'adhésion capillaire de chaque substance dissoute, sur un support (poudre ou papier) est différente ; chaque substance se déplace par capillarité sur un support avec sa vitesse propre ; la vitesse relative

par rapport au solvant ( $R_f$ ) est caractéristique de la substance, du support et du solvant.

Par exemple, sur un certain papier Whatmann n° 1, posons une goutte de solution aqueuse contenant quelques  $\gamma$  des aminoacides ci-dessous ; laissons sécher, puis laissons pénétrer par capillarité du phénol légèrement ammoniacal ; le solvant entraîne les aminoacides avec une vitesse propre à chaque fonction chimique. Au bout de quelques heures, les aminoacides sont séparés les uns des autres. Si la bande de papier a 1 m de long, on trouvera, au moment où le solvant atteint l'extrémité de la bande, les aminoacides aux niveaux suivants (solvant : phénol à 0,1 %  $\text{NH}_3$ ) :

Glycocolle...	$\text{CHNH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$	40 cm
Alanine.....	$\text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CO}_2\text{H}$ $\downarrow$ $\text{NH}_2$	54 cm
Valine.....	$(\text{CH}_3)_2 \rightarrow \text{CH} - \text{CH} - \text{CO}_2\text{H}$ $\downarrow$ $\text{NH}_2$	78 cm
Leucine.....	$(\text{CH}_3)_2 \rightarrow \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CO}_2\text{H}$ $\downarrow$ $\text{NH}_2$	83 cm

Plus la substance est liposoluble, plus elle est entraînée loin par le solvant phénolique. Avec la collidine, l'écart du glycocolle à la leucine est plus faible : 25 à 58.

La sérine, aminoacide à 1 fonction alcool, est entraînée à 36 cm dans le phénol, à 5 cm seulement dans le butanol ammoniacal.

La chromatographie sur papier permet, sur moins de 0,5 mg d'un mélange d'aminoacides, la séparation de tous les aminoacides présents, en une seule opération. On chromatographie à 2 dimensions ; une première fois par exemple avec du phénol à 80 %, une deuxième fois avec du butanol secondaire à 15 % d'acide formique et 10 % d'eau, dans une direction perpendiculaire à la première.