Stanovení obsahu kaseinu v mléce

## Teorie:

Izolace bílkovin

Bílkoviny se izolují často ze značně složitých směsí, což mnohdy vyžaduje i náročné laboratorní postupy používané při jejich separaci. Protože se bílkoviny obvykle vyskytují ve formě směsí s jinými bílkovinami, nebývá jejich separace jednoduchá a musí se naléz vhodné vlastnosti, které ji odlišují od ostatních bílkovin. Příkladem takových bílkovin je kasein v mléce nebo albumin ve vaječném bílku nebo krevním séru. Obvykle je nutné kombinovat více čistících operací. Je – li výchozím materiálem živočišná nebo rostlinná tkáň, je prvním krokem homogenizace v tekutém prostředí. Nejčastěji se provádí v homogenizátorech typu kuchyňského robotu. Jednoduchým homogenizačním postupem je také rozetření tkáně s křemičitm pískem. Metody izolace jsou obvykle založeny na rozdílné rozpustnosti bílkovin ve vodě. Na rozpustnost bílkovin má vliv např. pH, iontová síla, teplota atd.

Kasein

Kasein je hlavní bílkovinnou složkou mléka. Jeho obsah se pohybuje okolo 35 g.l-1. Ve skutečnosti je to heterogenní směs proteinů, obsahující kyselinu fosforečnou. Většina bílkovin je minimálně rozpustná v oblasti izoelektrického bodu a tuto vlastnost také využijeme právě při této izolaci. Izoelektrický bod kaseinu je při pH 4,8. Proto kasein vysrážíme přídavkem minerální kyseliny. Při pH o něco nižším než je izoelektrický bod, se kasein vyloučí z roztoku. V silně kyselém prostředí se však opět rozpouští díky přítomnosti bazických skupin. Při izolaci tedy musíme dát pozor na překyselení.

# Úkol č. 1: Stanovení obsahu kaseinu v mléce

|  |  |
| --- | --- |
| Chemikálie:kyselina chlorovodíková 10%ethanolether |  |

Pro přípravu 100 ml 10% roztoku smícháme 25,5 ml HCl (35 %) a 74,8 ml destilované vody.

|  |  |
| --- | --- |
| Pomůcky:kádinka 250cm3, 400cm3 2ksodměrný válecteploměrchemický stojanvarný kruh | varná síťkafiltrační kruhfiltrační nálevkafiltrační papírph indikátorové papírky |

## Postup:

100 cm3 mléka zahřejeme v kádince na teplotu 40 oC.

Po kapkách přidáváme za stálého (ale opatrného) míchání 10% kyselinu chlorovodíkovou. pH papírkem průběžně kontrolujeme pH směsi. Okyselení kyselinou chlorovodíkovou provádíme do té doby, dokud pH neklesne na 5,0. Je nutné se z výše uvedených důvodů vyhnout překyselení. Dosažení izoelektrického bodu se projeví vysrážením.

Suspenzi ochladíme na pokojovou teplotu, necháme stát 5 minut a zfiltrujeme.

Sraženinu vpravíme zpět do kádinky a promyjeme 2x vodou. Provedeme dekantaci.

Sraženinu v kádince pak rozsuspendujeme v 30cm3 ethanolu a zfiltrujeme přes řídký, nejlépe skládaný, filtr ovlhčený ethanolem.

Nakonec produkt promyjeme 40cm3 etheru. Pozor na plamen v blízkosti pracoviště – etherové páry jsou výbušné!

Produkt rozprostřeme na filtrační papír a po vysušení zvážíme a výtěžek porovnáme s teoretickou hodnotou.