

PROTOKOL ZA FRAKCIONO TALOŽENJE PROTEINA MLEKA METODOM ISOLJAVANJA

Metoda izoljavanja se bazira na taloženju hidrofolnih koloidnih rastvora uz pomoć soli lakih metala. Proteini, koji u rastvoru daju hidrofilne koloide, talože se različitom efikasnošću sa različitim solima, u različitim koncentracijama. Ova osobina se koristi za njihovo postepeno (frakciono) izdvajanje iz rastvora. Mleko, kao složeni rastvor proteina, koristi se kao model za prikazivanje metode izoljavanja.

	REDOSLED KORAKA PRI IZVOĐENJU METODE	KRATKO OBJAŠNENJE
1.	U 10 ml mleka dodati razblaženu sirćetnu kiselinu	Razblažena sirćetna kiselina taloži kazein iz mleka
2.	Profiltrovati sadržaj epruvete	Na filter papiru ostaje talog kazeina, a u mlečnom serumu se nalaze laktoalbumini i laktoglobulini
3.	Iz epruvetu odliti ml sadržaja i uraditi biuretsku probu	U mlečnom serumu se nalaze proteini mleka laktoalbumini i laktoglobulini, pa je biuretska proba pozitivna
4.	U epruvetu sa mlečnim serumom dodati zasićeni rastvor amonijum sulfata	Dodavanjem zasićenog rastvora amonijum sulfata u količini istoj kao i mlečni serum, postiže se poluzasićenje, kojim se talože laktoglobulini
5.	Profiltrovati sadržaj epruvete	Na filter papiru ostaje talog laktoglobulina, a u mlečnom serumu se nalaze laktoalbumini
6.	Iz epruvetu odliti ml sadržaja i uraditi biuretsku probu	U mlečnom serumu se nalaze proteini mleka laktoalbumini, pa je biuretska proba pozitivna
7.	U epruvetu sa mlečnim serumom dodati amonijum sulfat u supstanci, snažno mućkati i dodavati so dok ne ostanu nerastvoreni kristali na dnu	Dodavanjem amonijum sulfata u supstanci, postiže se zasićenje rastvora sa laktoalbuminima koji se u ovim uslovima talože
8.	Profiltrovati sadržaj epruvete	Na filter papiru ostaje talog laktoalbumina, a u mlečnom serumu više nema proteina
9.	U epruveti sa mlečnim serumom uraditi biuretsku probu	U mlečnom serumu više nema proteina, pa je biuretska proba negativna