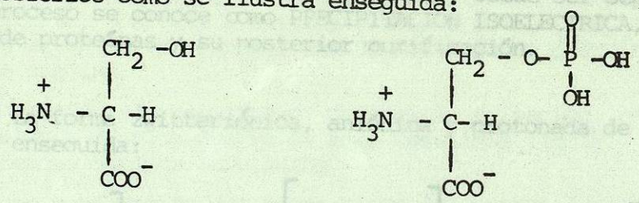
OBTENCION DE LA CASEINA A PARTIR DE LA LECHE

INTRODUCCION

La leche es un alimento importante en la dieta humana. Es el único recurso del que depende el desarrollo y crecimiento de los niños recién nacidos.

La leche de vaca es una fuente fundamental de proteínas, carbohidratos y lípidos. Contiene aproximadamente un 5% de Lactosa, 3.7% de Grasa 12.7% de Sólidos Totales, y un 87.6% de agua. Las proteínas principales presentes en ella son la Caseína y la Lactalbúmina, las cuales se encuentran en un 2.9% y un 0.5% respectivamente.

La lactalbúmina es una proteína soluble, parecida a la albúmina sérica y a la ovoalbúmina.La caseína es una proteína conjugada que se incluye dentro del grupo de las fosfoproteinas, ya que algunos de los residuos de serina presentes en la caseína tienen su grupo hidroxilo unido a un ácido fosfórico como se ilustra enseguida:



SERINA FOSFOSERINA

Aunque el contenido de proteínas de la leche de vaca es relativamente bajo, es mayor que el de la leche humana. La caseína, así como otras proteínas de orígen animal como la miosina y la albúmina de huevo, contienen todos los aminoácidos escenciales para el crecimiento y desarrollo humano.

OBJETIVO

Intentaremos en este experimento separar la casína de la leche, ajustando el pH de la misma a 4.8, que es el punto isoeléctrico de esta proteína, y trataremos de hacer una estimación cuantitativa presente en este alimento.

FUNDAMENTO

Las proteinas muestran muchas de las propiedades anfotéricas de los aminoácidos. Al disolverse, las proteínas se comportan como si fueran aminoácidos, y se ionizan de la misma manera, ya que los grupos R de los

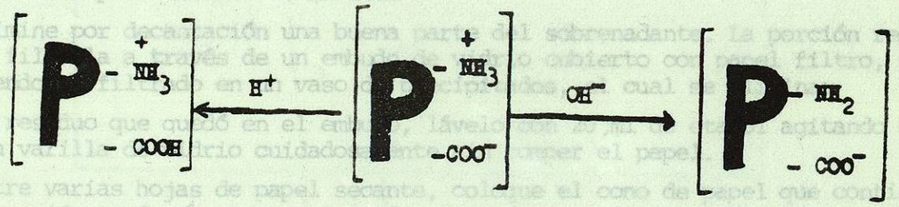
residuos pueden cargarse positivamente ó negativamente. La carga neta de una molécula de protína depende del pH de la solución y de la cantidad y tipo de grupos "R" presentes.

Cuando la carga neta de la proteína es cero, es decir, el número de cargas positivas es igual al número de cargas negativas, entonces la proteína no emigrará hacia ninguno de los polos en un campo eléctrico, y el pH en el que ocurre esta situación se denomina PUNTO ISOELECTRICO.

Cuando una proteína se encuentra en una solución alcalina con respecto a su punto isoeléctrico, tendrá una carga neta negativa, mientras que en una solución ácida, con respecto a su punto isoeléctrico, poseerá una carga positiva.

Si a una solución de proteína se le ajusta el pH al pH isoeléctrico, la proteína precipita de la solución, y puede ser separada fácilmente. Este proceso se conoce como PRECIPITACION ISOELECTRICA, y permite la separación de proteínas y su posterior purificación.

La forma zwitteriónica, aniónica y protonada de una proteína.- se ilustran enseguida:



FORMA CATIONICA FORMA ZWITTERIONICA FORMA ANIONICA

MATERIAL POR EQUIPO DE CUATRO PERSONAS

2 vasos de precipitados de 400 ml
2 pipetas graduadas de 10 ml
1 termómetro
1 parrilla eléctrica con agitación
1 barra magnética
1 agitador de vidrio
1 embudo de filtración rápida
1 mortero
2 tubos de 18 x 150
1 gradilla
Gasa, y dos bolsas de papel celofán

REACTIVOS

1.-Acido Acético 2M: Tomar 117.6 ml de HOAc concentrado y aforar a un volúmen de un litro con agua destilada.
2.-HCl 2%: Transferir 54 ml de acido clorhídrico concentrado a un matraz volumetrico de 1 litro conteniendo 300 ml de agua destilada, mezclar, y aforar.
3.-ETANOL
4.-ETER ETILICO
5.-NaOH 0.1%: Disolver 0.1 gramo de hidróxido de sodio en 50 ml de agua destilada y afore a 100 ml con agua destilada.

PARTE EXPERIMENTAL

1.-En un vaso de precipitados de 400 ml, coloque 50 ml de agua destilada y calientela hasta una temperatura de 38°C.

2.-Adicione 100 ml de leche y deposite cuidadosamente una barra magnética.

3.-Coloque el vaso de precipitados sobre una base magnética cercana al potenciómetro e introduzca los electrodos en la solución. Encienda la agitación cuidadosamente .Determine el pH inicial y deje el botón en la posición de pH.

4.-Con una pipeta, comience a adicionar gota a gota Acido Acético 2M ó HCl 2%, hasta que el pH de la solución sea de 4.8 , donde ocurrirá la máxima precipitación de caseína.

5.-Una vez obtenido el precipitado, detenga la agitación, remueva los electrodos, lávelos y dejelos dentro de agua destilada limpia. La solución manténgala en reposo durante 10 minutos

6.-Elimine por decantación una buena parte del sobrenadante. La porción restante filtrela a través de un embudo de vidrio cubierto con papel filtro, recogiendo el filtrado en un vaso de precipitados, el cual se elimina.

7.-El residuo que quedó en el embudo, lávelo con 20 ml de etanol agitando con una varilla de vidrio cuidadosamente sin romper el papel.

8.-Entre varias hojas de papel secante, coloque el cono de papel que contiene el residuo y deséquelo presionando con las hojas de papel secante.

9.-El precipitado seco, colóquelo en un vaso de precipitados y adicione 20 ml de eter etílico, agite bien la suspensión para deslipidizar la proteína.

10.-Filtre nuevamente esta suspensión a través de un embudo de filtración rápida cubierto con papel filtro. Descarte el filtrado. El residuo de color blanco esla CASEINA.

11.-Transferir la caseína a un mortero y pulverizarla. PESELA, y guardela en una bolsa de papel celofán.

12.-En un tubo de ensaye de 18 x 150 coloque una pequeña porción de la caseína obtenida y disuelvala en 5 ml de NaOH al 0.1% y realice la PRUEBA DE BIURET.
PRUEBA DE BIURET: A la solución proteíca, adicionele 1 ml del Reactivo de Biuret, agite y observe el color desarrollado. Corra un control positivo utilizando albúmina de huevo.