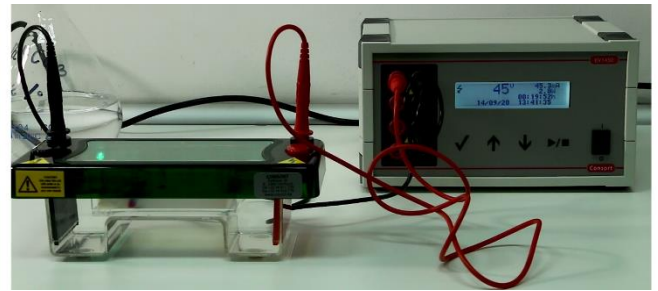


## Електрофоретско раздвајање боја

Гел електрофореза је техника за раздвајање протеина и нуклеинских киселина према молекулској маси и наелектрисању, на основу кретања наелектрисаних честица кроз раствор електролита под дејством спољашњег електричног поља. Принцип методе се може разумети на примеру електрофоретског раздвајања боја на агарозном гелу.

Потребна апаратура/хемикалије:

- Кадица за електрофорезу и извор напајања
- $\text{NaHCO}_3$  (за припрему пуфера и гела)
- Агароза (за припрему гела)
- Шећер или глицерин (за припрему узорака)
- Бомбоне M&M, Smarties, Skittles
- Стандардни узорци боја за храну

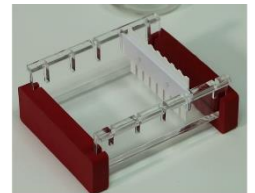


Време израде вежбе: 2 h

### Поступак

#### Припрема агарозног гела

- Припремити 0,2 % раствор  $\text{NaHCO}_3$  (pH овог раствора износи ~9,6)
- Припремити 1 % раствор агарозе у бикарбонатном пуферу (0,5 g агарозе растворити у 50 ml пуфера). Растварати у микроталасној пећници уз повремено мешање док смеша не постане сасвим провидна;
- У посуду за разливање гела поставити чешљић и излити припремљени раствор, пажљиво, како се не би формирали мехурићи. Наредних 20-ак минута гел оставити да очврсне;
- Пошто је гел припремљен, чешљић лагано извадити и посуду са гелом поставити у кадицу за електрофорезу;
- Бикарбонатни пуфер налити у кадицу преко гела до висине од око 2 mm изнад површине



## Припрема узорака

- Припремити раствор за екстракцију боја растварањем 15 g шећера у 20 ml топле воде;
- У чашице од 10 ml сипати по 2 ml припремљеног раствора, убацити по 3 бомбоне исте боје и мешати док се не стигне до белог слоја бомбоне



## Наношење узорака на гел и покретање електрофорезе

- У бунариће у гелу треба пажљиво додати по 20  $\mu$ l узорка боје, водећи рачуна о томе да се гел не оштети; у последњи бунарић сипати узорак са стандардним бојама за храну;
- Када су сви узорци нанети на гел, поклопити кадицу и електроде кабловима спојити са извором напајања. По укључивању напајања, подесити напон (на 100 V) и покренути електрофорезу;
- Напајање треба искључити када се боје приближе ивици гела (после 30 минута трајања електрофорезе);
- Гел извадити из посуде и приступити анализи резултата. Поређењем са стандардима извести закључак о компонентама присутним у узорцима. Продискутовати резултат у складу са молекулском масом и наелектрисањем молекула боја и прокоментарисати који узорци се састоје од више компонента а који су једнокомпонентни. Ради провере резултата, са амбалаже очитати састав, наћи структурне формуле присутних боја и неелектрисања компоненти у узорцима.

