

Enzymaktivitäten - Interpretationsbasis und Modifizierung der Aktivitätsbestimmungen nach OBST

Ute RICHTARSKI, Ingun-Astrid MÜLLER & Ulrich WACHT *

Problemstellung

Seit einigen Jahren werden Enzymaktivitätsbestimmungen in Gewässern angewandt. Sie erlauben, Stoffumsetzungen auf molekularer Ebene zu erfassen. Mikrobielle Abbauvorgänge spielen eine entscheidende Rolle im Ablauf von Stoff- und Energiekreisläufen in aquatischen Ökosystemen. Weiters sind sie eine Basis der biologischen Selbstreinigung der Gewässer. Ziel der Erfassung enzymatischer Aktivitäten ist es, den stoffwechselphysiologischen Funktionszustand der mikrobiellen aquatischen Biozönose rasch erkennen zu können. Durch ein technisch einfach und rationell durchzuführendes Monitoring mittels Aktivitätsbestimmungen könnte der Umfang von Programmen zur Bewertung der Gewässerveschaffenheit ergänzt und damit insgesamt vermindert werden (Abb. 1).

Die vorliegende Arbeit ist eine methodische Vorstudie zum Thema "Studie über Parameter zur Selbstreinigungskraft in der freien Welle von Fließgewässern". Projektleiterin ist Frau Mag. Ute RICHTARSKI, Hydrologische Untersuchungsstelle Salzburg, Leiter: Dipl.-Ing. Reinhold HAIDER. Die Laufzeit des Projektes ist von 1996 bis 1997 angesetzt. Forschungsprojekt Zahl 41.001/06-IVA1/96

Aus der Anwendung vorhandener Methoden (nach OBST) haben sich Fragen der Interpretierbarkeit in Bezug auf die tatsächlichen Umsetzungen im Gewässer ergeben, die bisher nicht zufriedenstellend beantwortet werden konnten. Die kritische Durchleuchtung der Methodik sollte daher Anhaltspunkte zu Modifikationen bringen mit dem Ziel, eine Basis zur Interpretation mit absolutem Bezug zu schaffen.

Die Untersuchungsmethoden basieren auf der fluorimetrischen Konzentrationsbestimmung eines Farbstoffes, der enzymatisch von einem der Wasserprobe zugegebenen künstlichen Substrat abgespalten wird.

* alle: Hydrologische Untersuchungsstelle Salzburg, Lindhofstr. 5, A-5020 Salzburg

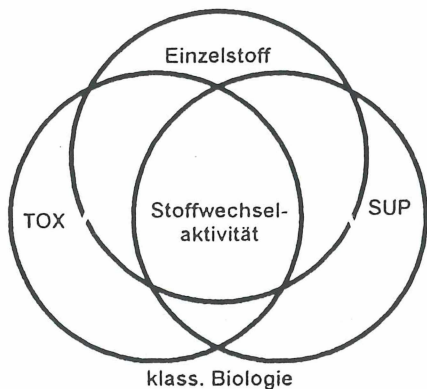


Abb.1: Zentrale Stellung der Stoffwechselaktivität im bisherigen System der Parameter zur Gewässerbeurteilung. TOX = Toxizität, SUP = Summenparameter

Ergebnisse

Nomenklatur

Das Ausmaß der Umsetzung der zugegebenen Testsubstrate in Relation zu den natürlicherweise vorliegenden Substraten ist vorerst nicht bekannt. Daher wird der Terminus Tests substrat-Umsatz (Abkürzungsvorschlag: TSU) unter Einbeziehung des verwendeten Testsubstrates in folgender Form vorgeschlagen: z.B. TSU Esterasen (Fluorescein-diacetat)

Absoluter Bezug

Die Berechnung der Ergebnisse gemäß OBST in % Substratumsatz pro Zeit erlauben nur bei stets gleicher Testsubstrat-Zugabemenge den Vergleich zwischen unterschiedlichen Enzymaktivitäten und verschiedenen Gewässern. Um die Tests substrat-Umsätze vergleichen zu können, wird die Einheit $\text{nmol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ gewählt.

Testsubstrate

Das Testsubstrat Fluorescein-diacetat (Esterasen) ist in Abhängigkeit von der Probenbeschaffenheit nicht hinreichend stabil und zu ersetzen. Ein Substrat für den Fettstoffwechsel (Lipasen) befindet sich in Ausarbeitung.

Der Einfluß natürlich vorliegender Substrate auf den Tests substrat-Umsatz ist noch zu prüfen.

Inkubationsbedingungen

Bei geringem Umsatz des Testsubstrates im Probenansatz wurde bisher eine Verlängerung der Inkubationszeit empfohlen, um meßbare Produktkonzentrationen zu erhalten. Unkontrollierbare Veränderungen in der Probe können hierbei nicht ausgeschlossen werden, da sich das Aktivitätspotential auf verschiedene Ebenen verteilt:

- molekular
- organismisch
- populationsdynamisch

Deshalb werden vorerst möglichst kurze Inkubationszeiten (max. 2 Stunden) vorgeschlagen.

Die Inkubationstemperatur stellt einen Kompromiß zwischen den Bedingungen im Gewässer und dem Temperaturoptimum der Enzyme dar. Eine Vereinheitlichung auf 25 °C erscheint zweckmäßig.

Hemmindices

Aus einer beobachteten Verminderung des Testsubstrat-Umsatzes in Verdünnungsreihen kann nicht zwingend auf eine Enzymhemmung geschlossen werden. Auch natürlicherweise in Konkurrenz vorliegende Substrate können den Umsatz des Testsubstrates hemmen.

Gewässer

Derzeit liegen überwiegend Ergebnisse aus deutschen bzw. Flachland-Gewässern vor. Diese stellen in ihrer Charakteristik (Mittel- und Unterlauf, langsam fließend, sommerliches Niederwasser, nährstoffreich, planktondominiert) meist einen völlig anderen Typus dar als viele österreichische alpine Fließgewässer (Ober- und Mittellauf, schnell fließend, nährstoffarm, sommerliche Hochwässer, abiotisch-schwebstoffdominiert). Bisherige

Ergebnisse lassen wesentliche Unterschiede im Muster der Testsubstrat-Umsätze erwarten (Abb. 2).

Biochemisches Leitbild

Ziel weiterer Untersuchungen ist die Entwicklung eines "Biochemischen Leitbildes" für Fließgewässer zur Ergänzung und möglichst auch Vereinfachung bisheriger Gewässergütemessungen.

Grundlage hierfür ist das Enzymaktivitätspotential, charakterisiert durch

- Aktivitätsniveau
- Aktivitätsmuster
- Aktivitätsdynamik.

Abstract

Heterotrophic microorganisms play a crucial role in the material and energy cycles which occur in aquatic ecosystems and therefore also in the self cleaning potential. Enzymatic conversions are at the heart of metabolic events. For this reason enzyme activities in aquatic systems have been used and published for several years now. The interpretation of the measured conversion rates with current test methods are, however, only possible in a limited manner.

This study was aimed to check and to improve the current methods with regard to units of activity (selection of $\text{nmol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), stabili-

ty of the test substrates (fluorescein diacetate should be substituted), influence of variable test substrate concentrations, competition with naturally occurring substrates in the samples, development of a test substrate for lipases, conditions of incubation (duration, temperature) and continuation of monthly performance of 5 enzyme activity assays on

5 different bodies of water in the Salzburg area).

The goal of future research is a further improvement of these methods and the creation of a "biochemical reference model" based on the level, the pattern and the dynamics of enzyme activities.

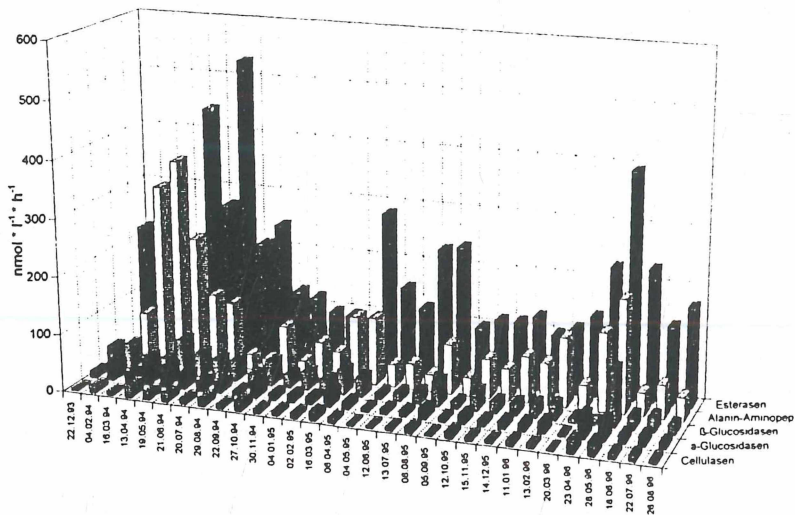


Abb. 2. Untersuchungen der Enzym-Aktivität in der Salzach von 1994 bis 1996

Frau Mag. RICHTARSKI führt diese Arbeit im Rahmen einer Dissertation bei Prof. Dr. Robert PATZNER ab Wintersemester 1997/89 weiter. Wir werden berichten.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Bufus-Info - Mitteilungsblatt der Biologischen Unterwasserforschungsgruppe der Universität Salzburg](#)

Jahr/Year: 1997

Band/Volume: [20](#)

Autor(en)/Author(s): Richtarski Ute, Müller Ingun-Astrid, Wacht Ulrich

Artikel/Article: [Enzymaktivitäten - Interpretationsbasis und Modifizierung der Aktivitätsbestimmung nach OBST 11-14](#)