©Biologische Station Lunz, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Jber.Biol.Stn Lunz 14: 37 - 40 (1993)

Modifizierung der Proteinanalyse für Sedimente

Maria LEICHTFRIED

Keywords: protein, POM, river bedsediments, methods

Abstract: Short notice to the modification of the analysis of protein in sediments. After problems with the high natural coloration of the sediment extracts a modification became necessary of the analytical method. Instead of the micro-biureth reaction, the Folin-Ciocolteu's reagent is used.

Wie schon in der letzten Bemerkung zur Proteinanalyse (LEICHTFRIED,1991) festgestellt, ist die Gesamtheit der Proteine in den Bettsedimenten eines Fließgewässers ein wichtiger Parameter, um das wesentliche Kompartiment der organischen Substanz, das Futter bester Qualität zu charakterisieren und zu beschreiben. Am zielführendsten erscheint die Methode PUSCH's (1987), basierend auf der von RAUSCH (1981) modifizierten Mikro-Biuret Methode. Diese wurde in Lunz im Jahre 1991 getestet und für die vorliegende Fragestellung brauchbar befunden (LEICHTFIRED, 1991). Bei der weiteren analytischen Arbeit mit Bettsedimenten mußte festgestellt werden, daß die Extrakte der analysierten Sedimente viel zu hohe Eigenfarbe haben, daß diese die Färbung der Proteinreaktion nahezu unmeßbar macht. Die Mikro-Biuret Reaktion wird bei einer Wellenlänge von 310 nm gemessen, bei der die Eigenfarbe voll mitgemessen wird und im Durchschnitt 97 % der Gesamtextinktion beträgt (Tab. 1).

Probe Nr	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Extinktion									
Eigenfarbe	1280	1200	1220	1210	1180	1180	1200	1200	1220
Biuret-Reaktion	1290	1240	1260	1250	1210	1210	1240	1250	1270
Differenz	10	40	40	40	30	30	40	50	50
△ %	0.78	3.23	3.17	3.20	2.48	2.48	3.23	4,00	3.94

n = 9
xg = 2.804 %
s^2 = 0.9376

CFL = ± 0.7443 %
LL = 1.9941 %
UL = 3.8334 % 100 % - 2.8 % = 97.2 %

Tab. 1: Extinktion der Mikro-Biuret Reaktion im Sediment und der Eigenfarbe dieses Sediments bei 310 nm, sowie prozentueller Anteil der Mikrobiuret - Färbung an der Extinktion.

Serie 1	OBERER SEEBACH, Probe 1								
Einwaage (g)	0.0058	0.0054	0.0057	0.0108	0.0114	0.0123	0.0223	0.0211	0.0219
Konz.Prot. (mg/g)	55.69	52.97	54.71	46.91	49.98	54.80	52.00	48.68	47.87

n = 9
xg = 51.42
s^2 = 10.7084

CFL = ± 2.515 = 4.9%
LL = 48.957
UL = 54.006

Serie 2	OBERER SEEBACH, Probe 2								
Einwaage (g)	0.0054	0.0050	0.0056	0.0118	0.0124	0.0111	0.0219	0.0223	0.0205
Konz.Prot. (mg/g)	45.97	43.85	46.95	45.94	46.00	47.74	42.78	45.90	44.43

n = 9
xg = 45.48
s^2 = 2.4013

CFL = ± 1.191 = 2.6 %
LL = 44.300
UL = 46.698

Serie 3	OBERER SEEBACH, Probe 3								
Einwaage (g)	0.0058	0.0054	0.0057	0.108	0.0114	0.0123	0.0223	0.0211	0.0219
Konz.Prot. (mg/g)	57.58	50.74	51.33	49.07	48.62	51.04	47.50	48.53	47.36

n = 9
xg = 50.12
s^2 = 9.83203

CFL = ± 2.410 = 4.8 %
LL = 47.854
UL = 52.482

Tab. 2: Test der Reproduzierbarkeit der Proteinanalyse mit Folin-Ciocalteu's Reagenz in Sedimentproben verschiedener Einwaagen.

©Biologische Station Lunz, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

©Biologische Station Lunz, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Außerdem bewegen sich diese hohen Extinktionen an der Meßgrenze des Photometers. Eine neuerliche Methodensuche führte zu der Methode nach LOWRY et all. (1951), modifiziert nach SCHMID-ARAYA (1989), bei der das FOLIN - CIOCALTEU's Reagenz verwendet wird. Die schon beschriebene bewährte Proteinextraktion der Sedimente nach RAUSCH (1981) wird beibehalten. Das phenolische Reagenz von FOLIN und CIOCALTEU (1927) wird durch die aus Protein entstandenen Phenolverbindungen zu "Molybden-Blau" reduziert und colorimetrisch bestimmt. HERRIOTT's (1941) Vorbehandlung der Proteine mit Lauge und Kupfersalz (NaOH - Na_2CO_3 - $CuSO_4$ - Tartrat Reagenz) ermöglicht aber erst eine reproduzierbare Analytik. Diese Vorbehandlung verstärkt nicht nur die Farbreaktion, sondern vermindert auch die Unterschiedlichkeiten der Reaktionen gegenüber verschiedenen Proteinmolekülen. Colorimetrisch wird bei 660 nm gemessen. Bei dieser Wellenlänge wird die gelb/bräunliche Eigenfärbung der Sedimente nicht mitgemessen. Darüber hinaus erhöht diese Methode die Sensitivität gegenüber der Micro-Biuret Reaktion um einen Faktor um etwa 60 (HERBERT, et al., 1971). Die Reproduzierbarkeit der Standardanalyse mit Folin-Ciocolteu's Reagenz wurde in 3 Serien getestet und für zufriedenstellend befunden (Abb. 1). Die Reproduktion der Sedimentanalyse wurde ebenfalls in 3 Serein bei verschiedenen Probeneinwagen geprüft. Die Standardabweichung bewegt sich zwischen 2.6 und 4.9 % und ist damit akzeptabel (Tab. 2).

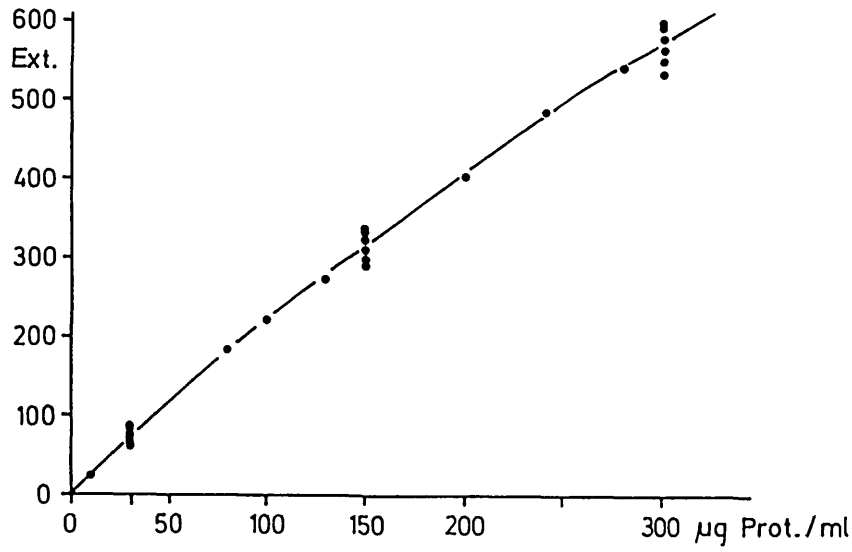

Abb. 1: Test der Proteinstandardanalysen mit Folin-Ciocolteu's Reagenz (Standard bovine serum albumin), 3 Serien, n = 21

©Biologische Station Lunz, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Literatur

SCHMID-ARAYA, J.M. 1989: Comparison of the characteristics of two rotifer species, *Brachionus plicatilis* (O.F. Müller) and *Encentrum linnhei* Scott 1974, as food organisms and their effect on growth and survival of newlyhatched larvae of the turbot *Scophalmus maximus L.*- Ph.D. Thesis, London Univ.

FOLIN, O., CIOCALTEAU, V. 1927: J.Biol.Chem, 73: 627-635.

HERBERT, D., PHIPPS, P.J., STRANGE, R.E. 1971: Microbial Analysis of Microbial Cells.- In: NORRIS, J.R., RIBBONS, D.W. (eds.), Methods in Microbiology 5B, 695 pp. Academic Press London, 210-343.

HERRIOTT, R.M. 1941: Proc.Soc.exp.Biol.Med. 46: 642-644.

LEICHTFRIED, M. 1991: Bemerkung zur Proteinanalyse der Sedimente.- Jber.Biol.Stn Lunz 13: 49-51.

LOWRY, O., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, H.J. 1951: Protein measurement with the Folin phenol reagent.- J.Biol.Chem. 193: 265-275.

PUSCH, M. 1987: Qualitative and quantitative Untersuchungen an abgelagertem partikulärem organischem Material in einem Mittelgebirgsbach.- Diplomarbeit, Universität Freiburg, 101 pp.

RAUSCH, T. 1981: The estimation of micro-algal protein content and its meaning for the evaluation of algal biomass. 1. Comparison of methods for extracting protein.- Hydrobiologia 78: 237-251.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Jahresbericht der Biologischen Station Lunz

Jahr/Year: 1993

Band/Volume: 1991-92_014

Autor(en)/Author(s): Leichtfried Maria

Artikel/Article: Modifizierung der Proteinanalyse für Sedimente. 37-40