

Versuch 5: Tryptischer Verdau von Casein

Einführung:

Im Körper sind viele Enzyme, die Makromoleküle hydrolytisch in ihre Einzelbausteine spalten. In diesem Versuch spalten wir Casein mithilfe von Trypsin. Wir nutzen zur Proteinmengen-Bestimmung die Nachweismethoden nach Biuret und Lowry.

Durchführung:

2 Biuret: Messungen der Proben bei 546 nm

	Probe 1		Probe 2	
	E	[mg/ml]	E	[mg/ml]
t = 0	0,343	7,54	0,379	8,33
t = 2	0,252	5,54	0,341	7,49
t = 5	0,215	4,73	0,363	7,98
t = 10	0,196	4,31	0,355	7,80
t = 15	0,176	3,87	0,338	7,43
t = 20	0,175	3,85	0,334	7,34

$$E_{\text{Referenz}} = 0,364$$

3 Lowry: Messungen bei 578 nm

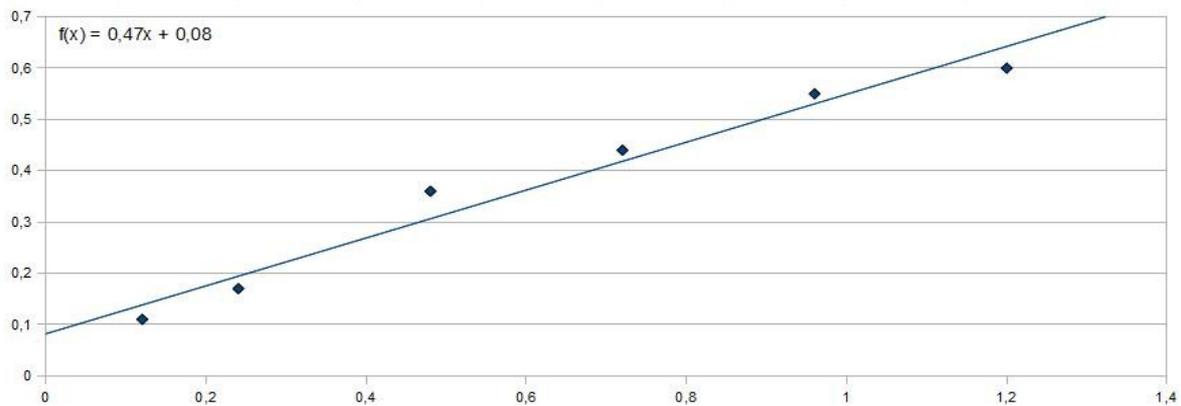
	Blindwert	Albumin (Kalibrierlösungen)					
		(1:10)	(1:5)	(2:5)	(3:5)	(4:5)	(1:1)
		0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
E_{578}	0	0,11	0,17	0,36	0,44	0,55	0,60
Konz.		0,12	0,24	0,48	0,72	0,96	1,2
	<u>Probe 1</u>	<u>0</u>	<u>2</u>	<u>5</u>	<u>10</u>	<u>15</u>	<u>20</u>
E_{578}		0,10	0,34	0,52	0,50	0,51	0,52
Konz.		0,43	5,53	9,36	8,94	9,15	9,36
	<u>Probe 2</u>	<u>0</u>	<u>2</u>	<u>5</u>	<u>10</u>	<u>15</u>	<u>20</u>
E_{578}		0,09	0,18	0,15	0,15	0,19	0,22
Konz.		0,21	2,13	1,49	1,49	2,34	2,98

Geradengleichung: $f(x) = 0,47x + 0,08$

Das Ergebnis noch mit 10 multiplizieren (wegen der Verdünnung!)

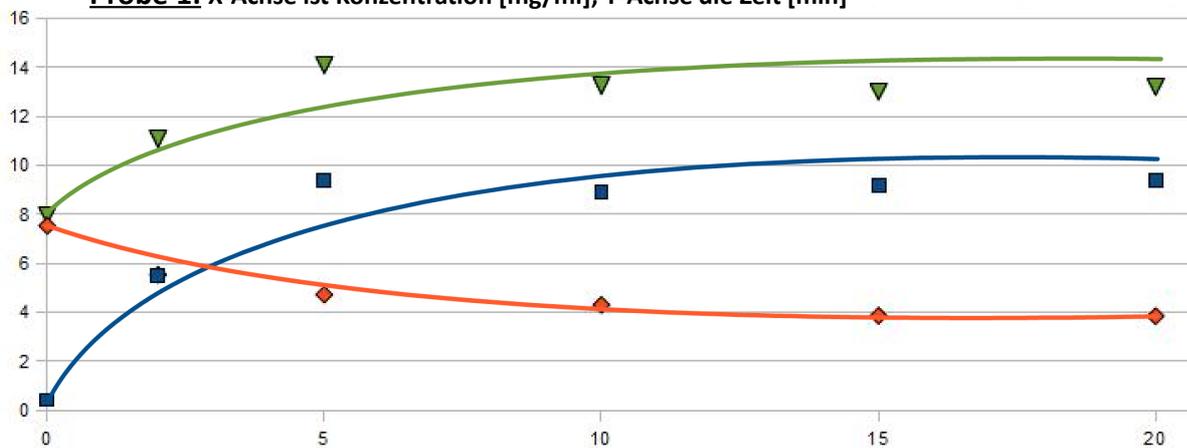
Ergebnisse:

----- **Kalibriergerade** für Lowry:



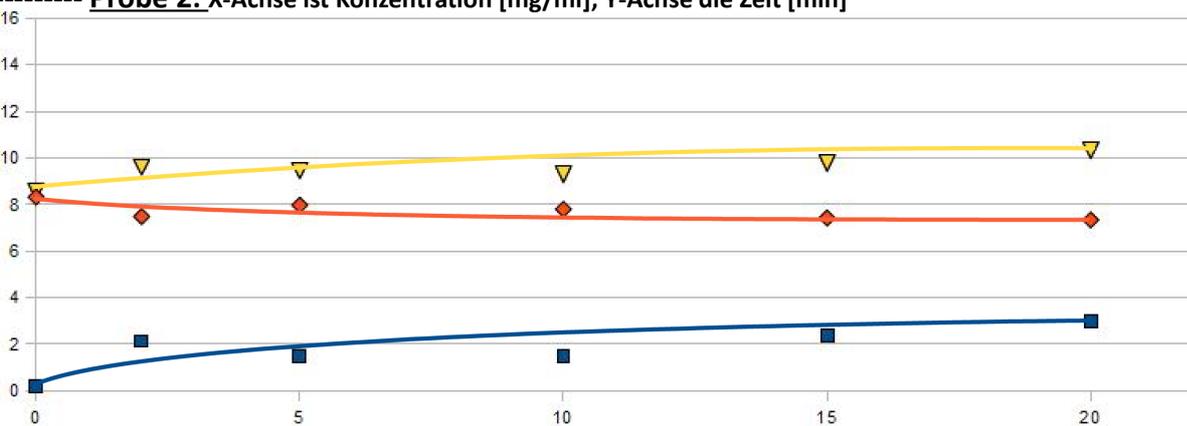
X-Achse ist die Extinktion; Y-Achse die Konzentration [mg/ml]

----- **Probe 1:** X-Achse ist Konzentration [mg/ml]; Y-Achse die Zeit [min]



Grün: Gesamtprot.; Blau: Lowry; Rot: Biuret

----- **Probe 2:** X-Achse ist Konzentration [mg/ml]; Y-Achse die Zeit [min]



Gelb: Gesamtprot.; Blau: Lowry; Rot: Biuret

Diskussion:

Man kann sehen, dass sich bei der Probe 2 (Ansatz mit Inhibitor) die Konzentrationen nahezu nicht verändern. Im Gegensatz dazu hat die Probe 1 (Ansatz ohne Inhibitor) wie erwartet eine Abnahme bei den nicht umgesetzten (Biuret) und eine Zunahme bei den umgesetzten Proteinen (Lowry).