



## Quantitative Analyse von Proteinen

Photometrische Bestimmung der Proteinkonzentration nach Biuret

### Sicherheit:

Chemikalie	Piktogramm	H und P-Sätze
Natronlauge NaOH	 Gefahr	H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden  P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301+330+331 BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P308+310 Bei Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, und Leitstelle anrufen
Kupfer(II)-sulfat Pentahydrat Cu(II)SO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	 Achtung	H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H315 Verursacht Hautreizungen H319 Verursacht schwere Augenreizung. H410 Sehr giftig für Wasserorganismen, Langzeitwirkung.  P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P302+P352 BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen
Kalium-Jodid KI	-	-
Natrium-Kalium-Tartrat C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> KNaO <sub>6</sub>	-	-
BSA	-	-
Natriumchlorid NaCl	-	-

### Chemikalien:

Biuret-Reagenz (45 g K-Na-Tartrat +5 g Kupfersulfat KI auf 1000 ml 0,2 M NaOH), BSA Standard (500 mg auf 50 ml 0,9% NaCl → 10 mg/ml), 0,9% NaCl, Trichter, Filter, ggf Mörser+Pistill

### Geräte:

Reagenzgläser je Probe 1 Stück +10 für die Kalibriergrade, Büretten 2\*, Photometer, Küvetten, Tropfpipetten, Erlenmeyerkolben 50 ml je Probe, Messpipetten 2 ml

### Material:

Beispielweise Hühnerei, Wurstwaren, Käse → Proben dürfen keine Trübung hervorrufen

### Durchführung:



1. Ggf. Ansetzen der Biuret-Reagenz
2. Ggf. Ansetzen der BSA-Standardlösung
3. Min 5 g (genaue Einwaage notieren) der festen Proben werden im Mörser mit 30 ml 0,9% NaCl leicht zerstoßen und anschließend in einem Erlenmeyerkolben filtriert
4. Min 5 g (genaue Einwaage notieren) der flüssigen Proben werden mit 10 ml isotonischer Kochsalz-Lösung verdünnt
5. Min 5 g (genaue Einwaage notieren) der weichen Proben werden grob zerkleinert und dann in 10 ml Kochsalz-Lösung für 10 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt, anschließend in einen 50 ml Erlenmeyerkolben filtriert
6. Hühnereier werden getrennt, das Eiklar mit 100 ml Kochsalzlösung verdünnt und ebenfalls 10 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt
7. Ansetzen der Kalibriergrade
  - In zuvor beschrifteten Reagenzgläser wird zuerst die in der Tabelle angegebene Menge an 0,9% NaCl mittels Bürette gefüllt
  - Nun wird in die Reagenzgläser die in der Tabelle angegebene Menge an BSA-Standardlösung mittels Bürette hinzugegeben

Reagenzglas	Vol. 0,9% NaCl In ml	Vol. BSA- Standard in ml	Proteinkonzentration In mg /ml
1	9,0	1	1
2	7,5	2,5	2,5
3	5,0	5	5
4	2,5	7,5	7,5
5	0	10	10

8. In 6 weitere beschriftete Reagenzgläser+ für jede Probe ein Reagenzglas wird nun je 2 ml der jeweiligen Konzentration pipettiert
9. Anschließend wird in jedes Reagenzglas 2 ml Biuret-Reagenz gegeben
10. In das letzte Reagenzglas wird 2 ml 0,9% NaCl pipettiert und mit 2 ml Biuret-Reagenz vermengt, dieses dient als Blindwert
11. Überführung des Blindwertes in eine Küvette, einstellen des Fotometers auf 546 nm und nullen des Gerätes mit dem Blindwert
12. Nacheinander wird nun von der schwächsten bis zur stärksten Konzentration die Extinktion gemessen und notiert.
13. Danach werden die Werte für die Proben ermittelt, liegt der Extinktionswert bei über 1 muss ein Teil Probenlösung verdünnt, erneut mit Biuret versetzt und gemessen werden

**Entsorgung:**

Sammelbehälter für organische wässrige Lösungen