

ÜBERPRÜFUNG DER LEISTUNGSFÄHIGKEIT DER ZUR ZEIT GEBRÄUCHLICHSTEN AMINOSÄUREBESTIMMUNGSMETHODEN IM RAHMEN EINES INTERNATIONALEN VERGLEICHES

W. MATTHIAS

*Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Pflanzenzüchtung,
Quedlinburg (D.D.R.)*

UND

J. WAGNER

Medizinische Klinik der Karl-Marx-Universität, Leipzig (D.D.R.)

(Eingegangen den 15. Mai 1966)

Seit der Einführung chromatographischer Verfahren zur Trennung und Bestimmung von Aminosäuren ist eine ausserordentlich grosse Zahl von Publikationen über Methoden und deren Anwendungen auf den verschiedenen Fachgebieten erschienen. Über die Genauigkeit der einzelnen Bestimmungsverfahren werden meist recht optimistische Werte angegeben, die einer exakten Prüfung nicht immer standhielten. Seit Jahren versuchen wir daher, innerhalb des Quedlinburger Arbeitskreises für Eiweissanalytik u.a. die verschiedenen Aminosäurebestimmungsmethoden auf ihre Leistungsfähigkeit zu überprüfen, indem entsprechende Analysenproben an Institute verschickt werden, die sich besonders mit der Aminosäureanalytik befassen. Die Ergebnisse werden dann auf einem mehrtägigen Symposium mit den Bearbeitern ausgewertet, um so zu möglichst leistungsfähigen Methoden zu kommen.

Im Jahre 1961 wurde an 14 Institute eine nicht näher bezeichnete Eiweissprobe (Eialbumin) verschickt¹. Nach einer einheitlichen Vorschrift zur Bestimmung der Trockensubstanz und der Hydrolyse wurden die Aminosäuren mit Hilfe der in den einzelnen Instituten angewandten Methoden analysiert und zwar in 9 Fällen säulenchromatographisch, in 4 Fällen papierchromatographisch und in 3 Fällen mikrobiologisch. Die erhaltenen Werte wiesen generell eine erheblich grössere Streubreite als $\pm 3\%$ auf. Bei der Auswertung der Ergebnisse ist jedoch zu beachten, dass zu den eigentlichen Bestimmungsfehlern die durch die Hydrolyse bedingten variierenden Verluste hinzukommen.

Im Jahre 1962 wurde der Teilnehmerkreis erweitert, und für die Enquête wurden 3 Analysenproben verschickt²: 2 Proben waren Mischungen aus 19 chromatographisch reinen Aminosäuren. Die 2 Mischungen wurden von neutraler Stelle eingewogen, in einem bestimmten Volumen gelöst und aliquote Teile davon gefriergetrocknet und in Polyäthylenfläschchen an die Untersucher verschickt. Bei der ersten Probe, Substanzgemisch A, wurde die genaue Zusammensetzung mitgeteilt; diese Mischung sollte als Eichprobe verwendet werden. Das Substanzgemisch B bestand aus denselben Aminosäuren, aber in einem anderen Mengenverhältnis. Eine weitere Analysesubstanz, Analyse C, war ein lyophilisiertes Hydrolysat eines

Eiweisspräparates. In Probe B und C war der absolute Gehalt der einzelnen Aminosäuren zu bestimmen. Damit sollte der eigentliche Analysenfehler bei der Aminosäurebestimmung untersucht werden. Durch die Analyse des lyophilisierten Eiweisshydrolysates (Baktopepton) sollte der Einfluss der Hydrolysennebenprodukte auf die Aminosäurebestimmung festgestellt werden. Als Ergebnis zeigte sich, dass bei der B-Analyse, die aus einer Mischung reiner Aminosäuren bestand, wo ausserdem die Möglichkeit gegeben war, aufgrund der Kenntnis der Zusammensetzung der A-Analyse einen Korrekturfaktor zu berücksichtigen, die Abweichungen der papierchromatographisch erhaltenen Werte vom theoretischen Wert ganz erheblich grösser waren als bei den säulenchromatographischen Werten, die aber auch hier wieder in fast allen Fällen den Fehlerbereich von $\pm 3\%$ überschritten. Bei den Ergebnissen der C-Analyse liess sich keine prozentuale Abweichung vom theoretischen Wert errechnen, da dieser für das verschickte Baktopepton-Hydrolysat nicht existiert. Bei der Untersuchung des Hydrolysates (Probe C) sollte festgestellt werden, ob die Abweichungen der Ergebnisse der einzelnen Untersucher sich in derselben Grössenordnung bewegen wie bei der B-Analyse. Die Zahlen zeigen aber eine wesentliche Überschreitung des Streubereiches der Ergebnisse der B-Analyse.

An der Enquête und dem Symposium 1964 beteiligten sich Fachkollegen von 35 Instituten aus 10 Nationen, welche in Tabelle I angeführt sind.

Als Analysenaufgabe war gestellt:

(A) Ein fertiges Proteinhydrolysat auf den Gehalt an Aminosäuren zu untersuchen.

(B 1) Ein Protein nach eigener Methode zu hydrolysieren und die Aminosäuren zu bestimmen.

(B 2) Das gleiche Protein wie B 1 nach oxydativer Vorbehandlung zu hydrolysieren und die Aminosäuren zu bestimmen.

Den Teilnehmern war nicht bekannt gegeben, dass es sich in allen 3 Fällen um das gleiche Humanserumalbumin handelte. Weiterhin war der Stickstoffgehalt der Probe B 1 anzugeben. An alle Teilnehmer waren umfangreiche Fragebogen über methodische Einzelheiten verschickt worden. Mit der Frage A sollte überprüft werden, ob die grossen Abweichungen der Aminosäurewerte der Hydrolysate von 1961 und 1962 sich verringert haben. Durch Vergleich der Analysen A und B 1 sollte der zusätzliche individuelle Hydrolysenfehler und durch Vergleich von B 1 und B 2 der Einfluss der oxydativen Vorbehandlung auf die einzelnen Aminosäuren festgestellt werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle II nach der jeweilig benutzten Methodik zusammengestellt, und zwar wurden:

Analysen 1-4 mit vollautomatischen Geräten der Firmen Beckman, Phoenix usw.³;

Analysen 5-12 mit dem Gerät nach HANNIG der Fa. Bender und Hobein⁴;

Analysen 13-17 mit der alternierenden Fraktionssammlermethode nach MATTHIAS⁵;

Analysen 18-21 mit der Fraktionssammlermethode nach MOORE UND STEIN⁶;

Analysen 22-23 mit Hilfe der Papierchromatographie;

Analysen 24-26 mikrobiologisch;

Analyse 27 mit speziellen Methoden durchgeführt.

Die Probe A wurde 48 Stunden mit 6 N Salzsäure im Verhältnis Protein zu Säure 1:1000 durch Erhitzung im Ölbad (125°) am Rückfluss hydrolysiert. Die er-

TABELLE I

Institut für organische Chemie und Biochemie der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Prag
Forschungsinstitut für tierische Erzeugnisse der Tschechoslowakischen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften, Uhrineves/Prag
Fakultät der Wissenschaften der Universität Bordeaux, Biochemisches Laboratorium, Bordeaux
Physiologisch-Chemisches Institut der Medizinischen Akademie, Lublin
Institut für Tierernährung und Tierphysiologie der Polnischen Akademie der Wissenschaften, Jablonna/Warschau
Institut für Pflanzenzüchtung der Polnischen Akademie der Wissenschaften, Poznań
Zentralinstitut für landwirtschaftliche Forschung, Institut für zootechnische Untersuchung, Bukarest
Institut für Organische Chemie der Universität Basel
Institut für Pflanzenzüchtung der Akademie der Landwirtschaftswissenschaften, Leningrad
Landwirtschaftliche Hochschule, Gorki (UdSSR)
Institut für Ernährungswissenschaft, Budapest
Forschungsinstitut für Lederindustrie, Budapest
Medizinische Universität, Medizinisch-Chemisches Institut, Budapest
Pharmakologisches Institut der Medizinischen Akademie, Magdeburg
Deutsches Wollforschungsinstitut an der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule, Aachen
Institut für Veterinär-Biochemie der Universität Berlin, Berlin-Dahlem
Landwirtschaftliche Forschungsanstalt Bünthehof, Hannover-Kirchrode
Physiologisches Institut der Tierärztlichen Hochschule, Hannover
Max-Planck-Institut für Eiweiss- und Lederforschung, München
Institut für Biochemie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Humboldt-Universität Berlin
Institut für Pharmakologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Berlin-Buch
Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt, Chemisches Zentrallaboratorium, Dresden
Deutsches Lederinstitut, Abteilung Forschung Freiberg (Sachsen)
Institut für Kulturpflanzenforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Gatersleben
Physiologisch-Chemisches Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle
Institut für Tierernährung der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle
Institut für Tierernährung der Friedrich-Schiller-Universität, Jena
Physiologisch-Chemisches Institut der Karl-Marx-Universität, Leipzig
Institut für Stabile Isotope der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Leipzig
Institut für Verfahrenstechnik der Organischen Chemie der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Leipzig
Klinik für Herz- und Gefässchirurgie der Karl-Marx-Universität, Leipzig
Medizinische Klinik der Karl-Marx-Universität, Leipzig
Institut für Ernährung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Potsdam-Rehbrücke
Institut für Pflanzenzüchtung der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Quedlinburg
Oskar-Kellner-Institut für Tierernährung der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Rostock

haltenen Werte der einzelnen Untersucher zeigen unabhängig von der angewandten Aminosäurebestimmungsmethode eine erheblich geringere Abweichung der entsprechenden Aminosäurewerte untereinander im Vergleich zu den früheren Enquêtes, jedoch wurde in vielen Fällen immer noch die geforderte Fehlergrenze von $\pm 3\%$ überschritten. Vergleicht man die Abweichung der einzelnen Werte von A und B 1 untereinander, so zeigt sich ganz deutlich der grosse Einfluss der jeweils angewandten Hydrolysenmethode auf die Ergebnisse.

TABELLE II

Aminosäure (A: g AS/100 g Protein) (B: g AS/100 g Probe B)		Säulenchromatographisch												
		1a*	1b**	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Cystin (½)	A	5.32	—	5.17	—	5.36	5.7	3.12	—	—	s.Al.	2.57	6.43	4.1
	B ₁	5.68	—	4.27	—	5.19	4.6	1.02	—	—	s.Al.	4.47	7.98	—
	B ₂	6.25	6.44	3.58	4.55	5.02	3.8	—	4.72	4.0	4.45	4.05	—	—
Oxyprolin	A	—	—	—	—	0	0.0	—	—	—	—	—	—	—
	B ₁	—	—	—	6.60	0	0.0	—	—	—	—	—	—	—
	B ₂	—	—	—	5.39	0	0.0	—	—	—	—	—	—	—
Asparaginsäure	A	10.38	—	10.08	10.45	9.65	12.9	10.26	10.61	10.0	10.9	8.95	10.62	10.0
	B ₁	10.80	—	9.59	10.10	9.05	9.9	9.48	9.23	9.0	10.0	8.75	10.82	—
	B ₂	10.15	10.02	9.70	9.00	7.54	4.6	—	9.21	9.4	10.7	—	—	—
Threonin	A	4.44	—	4.34	4.57	4.24	5.2	4.23	4.80	4.4	4.3	4.28	4.84	3.6
	B ₁	5.17	—	4.40	4.15	4.63	4.4	4.26	4.40	4.4	4.7	3.61*	3.57	—
	B ₂	4.94	4.51	4.08	4.12	3.21	1.9	—	3.93	4.2	4.4	—	—	—
Serin	A	2.91	—	2.84	2.94	2.92	3.2	2.73	3.23	4.8	3.2	2.69	3.93	3.4
	B ₁	3.78	—	3.11	2.97	3.62	3.3	3.29	3.13	3.1	4.5	4.48*	2.22	—
	B ₂	3.47	3.21	3.10	2.95	2.54	1.5	—	2.64	3.1	3.6	—	—	—
Glutaminsäure	A	16.62	—	16.82	16.45	15.57	19.7	14.88	17.47	—	16.9	15.35	16.05	17.9
	B ₁	17.88	—	16.42	11.68	13.62	15.1	11.89	16.37	—	17.3	16.90	17.45	—
	B ₂	18.10	16.85	16.03	14.81	11.35	8.3	—	14.36	—	17.6	—	—	—
Prolin	A	4.30	—	4.23	5.29	4.27	5.3	3.15	3.50	4.8	5.5	3.88	4.26	4.3
	B ₁	4.33	—	4.16	4.36	4.00	4.6	3.55	3.46	5.2	5.2	3.84	3.80	—
	B ₂	4.35	4.26	3.72	5.55	3.21	4.6	—	3.48	5.1	5.2	—	—	—
Glycin	A	1.40	—	1.35	1.56	1.26	1.9	1.40	1.49	1.3	2.0	1.14	2.28	1.9
	B ₁	1.46	—	1.32	1.40	1.22	1.5	1.44	1.40	1.3	1.6	0.96	1.93	—
	B ₂	1.50	1.38	1.30	1.41	1.29	0.6	—	1.37	1.3	1.4	—	—	—
Alanin	A	8.07	—	7.99	8.56	7.54	9.0	8.40	7.96	7.8	9.0*	7.35	7.65	8.1
	B ₁	8.40	—	7.53	7.95	6.86	6.8	7.06	7.22	7.3	9.4*	6.62	8.43	—
	B ₂	8.34	7.89	7.54	6.70	5.88	2.9	—	5.80	7.2	7.7	—	—	—
Valin	A	7.00	—	6.94	6.86	6.73	8.1	6.79	6.05	6.7	7.3	6.30	3.10	7.9
	B ₁	7.32	—	6.83	6.75	6.10	6.0	5.55	7.00	5.9	6.2	5.65	3.35	—
	B ₂	7.08	6.79	6.50	7.45	5.23	3.1	—	6.89	5.7	6.5	—	—	—
Methionin	A	1.13	—	1.21	1.27	1.03	1.6	1.12	1.23	—	0.6	1.28	1.08	1.2
	B ₁	1.64	—	1.18	1.10	0.28	1.5	0.93	0.36	—	1.0	0.52	0.91	—
	B ₂	1.51	1.45	0.71	1.05	1.01	0.0	—	0.39	1.3	1.0	0.1	—	—
Isoleucin	A	1.62	—	1.62	1.74	1.60	1.9	1.29	1.89	1.5	1.3	1.54	1.75	1.3
	B ₁	1.71	—	1.56	1.53	1.43	1.4	1.34	1.48	1.3	1.6	1.58	2.38	—
	B ₂	1.71	1.60	1.53	1.54	1.05	0.7	—	1.45	1.3	1.1	—	—	—
Leucin	A	11.75	—	11.68	11.57	10.39	15.3	9.92	11.71	11.2	12.0	10.22	10.70	9.5
	B ₁	12.45	—	11.04	10.83	10.60	12.0	8.23	10.52	10.8	11.5	9.30	12.60	—
	B ₂	12.31	11.62	10.81	9.85	7.47	5.2	—	9.26	10.3	11.4	—	—	—
Tyrosin	A	4.40	—	4.72	4.57	4.16	4.9	4.15	4.10	4.4	3.9	4.30	4.40	4.3
	B ₁	4.64	—	4.60	3.91	3.77	4.0	3.48	2.80	4.1	4.2	4.81 ⁺	1.31	—
	B ₂	—	—	—	0	0	0.0	—	—	0.4	0	—	—	—
Phenylalanin	A	7.51	—	7.63	7.13	7.26	8.3	6.96	7.36	7.5	9.4	7.07	8.12	8.6
	B ₁	7.76	—	7.29	5.82	6.77	6.9	6.55	6.81	7.0	9.0	6.90	8.73	—
	B ₂	6.57	—	6.18	5.42	0	3.0	—	—	0.8	7.5	—	—	—
Tryptophan	A	—	—	—	—	—	0.0	—	—	—	—	0	—	—
	B ₁	—	—	—	—	0	0.0	—	—	—	—	0.6 ⁺	—	—
	B ₂	—	—	—	—	—	0.0	—	—	—	—	—	—	—
Histidin	A	3.47	—	2.96	3.21	3.36	2.7	1.92	3.54	3.7	3.5	3.40	3.24	2.3
	B ₁	3.60	—	3.02	3.08	3.05	2.5	—	2.65	3.2	3.5	3.45	3.91	—
	B ₂	0.57	0.73	—	0	1.08	2.5	—	0.86	1.7	2.6	—	—	—
Lysin	A	12.58	—	12.05	12.99	12.03	10.3	11.89	12.87	12.4	13.6	12.20	13.48	11.4
	B ₁	13.09	—	11.88	11.62	10.96	10.5	17.17	10.27	11.0	12.5	11.96	13.78	—
	B ₂	13.92	15.55	11.56	11.85	9.92	10.6	—	10.32	10.9	13.2	—	—	—
Arginin	A	6.20	—	5.97	5.79	6.42	5.5	4.27	6.39	5.9	7.0	5.92	6.22	6.1
	B ₁	6.87	—	5.81	5.25	5.52	5.2	6.44	4.64	5.5	7.4	5.80	5.63	—
	B ₂	6.54	7.14	5.02	5.10	4.33	5.3	—	4.50	5.4	6.3	—	—	—
Ammoniak	A	1.50	—	1.14	1.33	—	1.7	3.41	1.10	—	1.5	1.21	1.34	1.0
	B ₁	1.42	—	1.04	0.86	1.40	1.3	3.29	1.18	—	1.5	2.04	2.28	—
	B ₂	1.68	3.22	1.64	—	—	1.3	—	4.59	—	2.3	—	—	—
Cysteinsäure	A	—	—	0.19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B ₁	—	—	0.16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	B ₂	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Spez. Bemerkungen	* Oxyd. m. 88% HCOOH + H ₂ O ₂ bei B ₂		** Oxyd. m. 93% HCOOH + H ₂ O ₂ bei B ₂								* + Cy		* Auf O. Std. d. Hyd. korr. + Spektroph. Bstg. (5.05 Ty)	
g N/100 g Probe B	—		15.85	14.02	15.1	14.5	14.31	13.86	14.14	—		15.4	16.09	—

										Papierchromatogr.			Mikrobiol.			Spez. Meth.
4	15	16	17	18	19	20a*	20b**	21	22	23	24	25	26	27		
—	5.1	5.2	—	5.1	4.80	—	5.04	7.29	—	—	1.99	4.7	2.38	—		
—	—	4.3	—	4.8	3.57	—	—	—	—	—	3.58	5.7	5.83	—		
—	—	5.7	—	8.52	4.96	—	4.03	—	—	—	—	(0.3)	—	—		
0.59	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
7.87	10.6	10.5	8.9	10.4	8.56	10.12	10.06	7.55	8.7*	10.8	—	—	—	—		
10.75	—	9.7	10.0	10.0	7.46	—	8.29	—	9.8*	10.5	—	—	—	—		
—	—	9.4	—	8.8	8.91	—	6.49	—	—	—	—	—	—	—		
3.79	4.6	4.5	4.8	4.3	4.12	5.37	4.40	4.02	4.6	4.0	4.59	4.9	—	—		
4.12	—	4.5	4.9	4.4	3.66	—	—	—	4.8	3.8	—	4.7	—	—		
—	—	4.2	—	3.2	4.44	—	4.28	—	—	—	—	4.6	—	—		
3.04	2.9	3.1	4.5	3.5	2.52	3.74	3.88	2.01	4.4	—	—	—	—	—		
4.15	—	3.2	3.2	3.7	2.68	—	2.87	—	3.1	—	—	—	—	—		
—	—	2.6	—	2.6	3.45	—	3.09	—	—	—	—	—	—	—		
16.44	16.5	15.5	13.8	16.3	16.05	16.07	14.78	15.10	13.8 *	11.2	—	—	—	—		
17.59	—	15.7	15.2	16.6	14.11	—	12.17	—	15.3*	15.5	—	—	—	—		
—	—	15.2	—	15.9	18.10	—	10.78	—	—	—	—	—	—	—		
4.66	4.4	4.5	4.0	4.4	3.22	3.24	2.78	Spuren	4.1	2.5	—	—	—	—		
6.44	—	4.3	5.1	4.6	2.78	—	3.66	—	5.0	3.6	—	—	—	—		
—	—	3.9	—	4.2	2.67	—	2.69	—	—	—	—	—	—	—		
1.53	1.2	1.4	1.6	1.3	1.26	1.35	1.31	1.51	1.5	1.5	—	—	—	—		
2.48	—	1.4	1.6	1.4	0.99	—	0.96	—	1.7	1.9	—	—	—	—		
—	—	1.3	—	1.1	1.05	—	1.02	—	—	—	—	—	—	—		
10.28	8.1	8.0	7.8	8.0	7.14	10.89 ⁺	7.47	7.55	7.7	4.9	—	—	—	—		
10.30	—	7.3	7.0	7.7	6.44	—	7.89 ⁺⁺	—	7.0	5.6	—	—	—	—		
—	—	7.5	—	7.3	7.98	—	5.27	—	—	—	—	—	—	—		
6.26	7.1	6.9	5.4	6.4	6.44	7.32	6.84	6.78	5.3	7.3	—	6.8	—	—		
6.20	—	7.2	6.0	6.2	5.40	—	5.20	—	5.9	7.2	—	7.1	—	—		
—	—	6.7	—	5.7	6.38	—	4.76	—	—	—	—	7.0	—	—		
1.62	1.3	1.5	1.3	—	—	1.09	1.27	Spuren	1.2	1.8	1.36	1.1	1.13	—		
—	—	1.1	0.8	—	—	—	1.09	—	0.9	2.1	1.90	1.4	1.35	0.52*		
—	—	1.4	—	2.09	—	—	1.68	—	—	—	—	—	—	—		
2.07	1.6	1.8	2.3	2.0	1.55	1.45	—	—	s. Leu	s. Leu	—	2.4	—	—		
1.31	—	1.8	2.3	1.7	1.31	—	0.99	—	s. Leu	s. Leu	—	2.1	—	—		
—	—	1.8	—	1.5	1.33	—	1.22	—	—	—	—	2.0	—	—		
10.00	10.9	11.4	10.1	11.8	10.21	10.89	10.73	10.31	12.0	15.6	—	11.2	—	—		
9.90	—	10.7	9.2	10.9	9.41	—	8.75	—	11.8	15.5	—	11.0	—	—		
—	—	10.6	—	10.9	8.99	—	9.03	—	—	—	—	10.7	—	—		
3.06	4.7	4.5	3.9	4.2	4.35	4.59	4.30	5.03	4.0	3.1	3.77	4.1	—	—		
3.86	—	4.0	4.0	4.2	3.53	—	3.10	—	4.1	4.4	3.83	4.1	—	3.35*		
—	—	0	—	0.4	0	—	Spuren	—	—	—	—	(0.06)	—	—		
8.69	7.7	7.4	6.6	7.5	7.30	7.62	7.02	7.05	6.5	5.5	6.54	7.2	—	—		
6.62	—	7.0	6.0	7.0	7.53	—	5.90	—	6.2	6.8	6.51	6.8	—	—		
—	—	6.6	—	6.0	0	—	Spuren	—	—	—	—	0.7	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	0	—	Spuren	—	—	—	—		
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.0	—	0.22	—	c.94*		
0.96	3.0	3.4	3.1	3.4	4.20	2.72	2.64	6.54	3.2	—	2.87	3.2	—	—		
1.11	—	3.0	3.2	3.7	4.09	—	2.97	—	3.0	—	2.95	3.2	—	—		
—	—	0.7	—	—	0.97	—	2.07	—	—	—	—	2.0	—	—		
8.72	12.1	12.9	11.3	13.2	13.64	11.98	12.52	10.07	11.0	5.8	10.92	12.1	12.36	—		
8.79	—	12.0	11.6	12.6	14.81	—	10.27	—	11.6	9.9	9.80	12.3	13.24	—		
—	—	11.5	—	—	13.71	—	9.75	—	—	—	—	12.6	—	—		
6.45	6.1	6.5	6.3	5.6	8.33	8.12	5.90	5.52	6.1	2.5	—	6.7	—	—		
5.23	—	6.0	5.6	5.7	10.32	—	7.04	—	5.5	5.7	4.70	6.3	—	—		
—	—	6.3	—	—	14.02	—	10.47	—	—	—	—	6.2	—	—		
1.24	1.2	1.4	—	1.4	0.97	1.04	1.01	—	—	—	—	—	—	—		
0.49	—	1.4	—	1.4	2.34	—	0.65	—	—	—	—	—	—	—		
—	—	1.5	—	—	2.37	—	1.41	—	—	—	—	—	—	—		

*Dowex 50

** KPS

*Elphor. Bstg.

* Polaro-graph Bstg.

* Jodom. Bstg.

++ Cy

++ + Cy

15.63 — 15.1 15.8 14.6 16.48 12.73 — s.Sp. 11 8.49* s.Sp. 4 s.Sp. 13 14.5

Bei den Ergebnissen der B₂-Analysen überrascht, dass bei der Bestimmung von Methionin als Methioninsulfon ein hoher Prozentsatz der Untersucher weniger Methionin findet als bei der Hydrolyse ohne oxydative Vorbehandlung, und ähnliches trifft auch für die Cystein/Cystin-Werte zu. Um festzustellen, welchen Einfluss die oxydative Vorbehandlung auf die übrigen Aminosäurewerte hat, sind bei dieser Analyse alle Aminosäuren bestimmt worden. Erwartungsgemäss wurde dabei das Tyrosin vollständig und Histidin und Phenylalanin zum erheblichen Teil zerstört.

Diese Diskussionen der Werte der Tabelle II können nur allgemeine Gesichtspunkte hervorheben. Die aufgrund des grossen Zahlenmaterials sich ergebenden Probleme sind auf dem Symposium in Quedlinburg im einzelnen ausführlich erörtert worden.

Die Internationale Aminosäure-Enquête und das Internationale Symposium über Aminosäureanalytik in Quedlinburg 1964 haben also gezeigt, dass die zur Zeit in der Literatur publizierten Werte nicht den absoluten Charakter tragen, wie er ihnen meistens beigemessen wird. Die bei der Auswertung des Zahlenmaterials sich ergebenden Probleme sind die Ausgangsbasis für die Fragestellungen der nächsten Aminosäure-Enquête.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Überprüfung der z.Z. gebräuchlichsten Aminosäure-Bestimmungsmethoden wurde für das IV. Internationale Symposium des Quedlinburger Arbeitskreises für Eiweissanalytik ein internationaler Analysenvergleich durchgeführt. An dieser Enquête beteiligten sich 27 Institute aus 8 Nationen. In einer Tabelle sind die Ergebnisse unter Angabe der Methodik zusammengestellt. Bei der Auswertung der Befunde auf dem Symposium wurde festgestellt, dass bei wiederholten Bestimmungen in den einzelnen Instituten bei der säulenchromatographischen und mikrobiologischen Methode die Abweichungen etwa $\pm 3\%$ betragen, die Werte zwischen den Instituten jedoch wesentlich grössere Streuungen ergaben. Daraus wird die Schlussfolgerung gezogen, dass die z.Z. in der Literatur publizierten Werte nicht den absoluten Charakter tragen, wie er ihnen meistens beigemessen wird.

SUMMARY

In order to test the methods for determining amino acids most often used at present, a comparison of analyses was made on an international basis for the 4th International Symposium on Protein Analysis, held in Quedlinburg. Twenty-seven institutes in eight countries took part in this investigation. The results, together with the techniques used, are summarized in a table. On evaluation of these findings at the Symposium it was established that, for column chromatographic and microbiological methods, repeated determinations carried out at the same institute showed deviations of about $\pm 3\%$. On the other hand the variations between the different institutes were much greater. From these findings it was concluded that the values published in the literature do not have the absolute character which is usually ascribed to them.

LITERATUR

- 1 W. MATTHIAS UND J. WAGNER, *Z. Chem.*, 2 (1962) 126.
- 2 W. MATTHIAS UND J. WAGNER, *Z. Chem.*, 5 (1965) 171.
- 3 D. H. SPACKMAN, W. H. STEIN UND ST. MOORE, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1190.
- 4 K. HANNIG, *Clin. Chim. Acta*, 4 (1959) 51.
- 5 W. MATTHIAS, *J. Chromatog.*, 6 (1961) 333.
- 6 ST. MOORE, D. H. SPACKMAN UND W. H. STEIN, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1185.

J. Chromatog., 26 (1967) 41-47