

CHROM. 3408

Zur Methodik der säulenchromatographischen Bestimmung von Ornithin und γ -Aminobuttersäure

Im Rahmen einer grösseren Arbeit, die sich mit der Untersuchung der freien Aminosäuren in Gerstenmalzwürzen befasst, sollte versucht werden, neben den für die hier benutzte Apparatur nach HANNIG¹ angegebenen Standardaminosäuren, auch noch eventuell vorhandene zusätzliche Aminosäuren zu bestimmen.

Seit Erscheinen dieser Beschreibung hat die Herstellerfirma* diese Apparatur jedoch modifiziert. Die Säulenfüllung besteht nunmehr aus einem (von der Lieferfirma leider nicht genauer definierten) sphärischen Aminalharz, das eine wesentliche Verkürzung der Säulen und damit der Versuchsdauer ermöglicht. Die angewandten Puffer entsprechen dabei in Zusammensetzung und pH ebenso wie die Säulenlängen den von der Firma Beckman für den "Unichrom" angegebenen Werten². Für die Bestimmung von zusätzlichen Aminosäuren bot sich daher bei der basischen Säule die von SPACKMAN, STEIN UND MOORE³ entwickelte und von der Firma Beckman² modifizierte "physiologische" Methode zur zusätzlichen Prüfung, vor allem auf das eventuelle Vorhandensein von γ -Aminobuttersäure, Ornithin und Colamin an.

Für orientierende Vorversuche diente die Eichlösung "Amino acid calibration mixture type 1" von Beckman, der dann jeweils die noch zusätzlich zu bestimmende Aminosäure beigefügt wurde.

Bei diesen Vorversuchen zeigte es sich, dass, bedingt durch die starke Verkürzung der Säule (12 cm gegenüber 50 cm bzw. 29 cm), im Vergleich zu den angeführten Untersuchungen^{2,3}, eine starke Zusammendrängung der Peaks erfolgte, so dass hier Ammoniak von Colamin überlagert wurde und Ornithin von γ -Aminobuttersäure (Fig. 1). Das Erscheinen eines Peaks an dem Platz für Ornithin und γ -Aminobuttersäure bei Versuchen mit Malzwürze machte es notwendig, zu klären, ob es sich hier um ein Gemisch der zwei Aminosäuren handelte oder nur um eine von beiden.

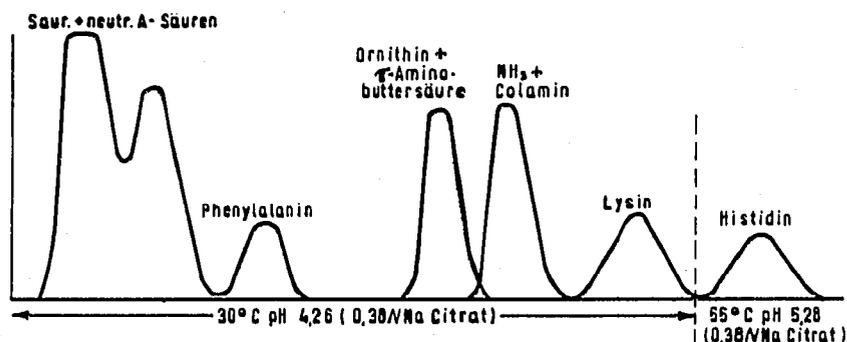


Fig. 1. Auftrennung der basischen Aminosäuren nach SPACKMAN, STEIN UND MOORE³.

Da WÜNSCH⁴ fand, dass Ornithin beim normalen Lauf Lysin überlagert, was auch eigene Versuche bestätigten, wurden zunächst einmal die Werte für Lysin in einer Malzwürze beim normalen und beim physiologischen Lauf, der ja eventuell vorhandenes Ornithin vom Lysin abtrennen musste, verglichen. Das Ergebnis zeigte

* Bender und Hobein, München, Karlsruhe.

kaum eine Veränderung der Lysinmenge (6.45 cm^2 gegenüber 6.8 cm^2), obwohl beim physiologischen Lauf an der Ornithin und γ -Aminobuttersäure zugeordneten Stelle ein grösserer Peak erschien (5.15 cm^2).

Eine weitere Möglichkeit zur Aufklärung dieser Frage erschien noch durch die Anwendung der Ornithinbestimmung nach WÜNSCH⁴ gegeben. Dazu erfolgte zunächst eine Voruntersuchung mit Eichsubstanzen, wobei die Zugabe von Ornithin, γ -Aminobuttersäure und auch Colamin erst einzeln zur Definierung ihrer Standorte zugegeben wurde. Colamin blieb auch hier auf dem Ammoniakpeak, dagegen zeigte sich eine deutliche Abtrennung von Ornithin, das an der von WÜNSCH angegebenen Stelle erschien, und γ -Aminobuttersäure, die unmittelbar nach den sauren und neutralen Aminosäuren auftrat.

Fig. 2 zeigt das sich bei gleichzeitiger Zugabe aller drei Aminosäuren ergebende Bild.

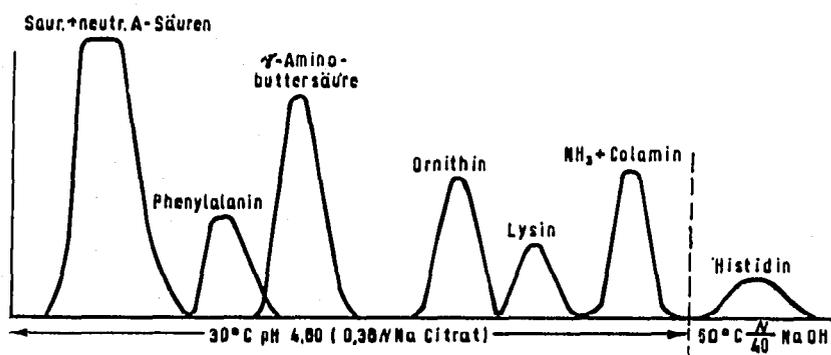


Fig. 2. Auftrennung der basischen Aminosäuren nach WÜNSCH⁴.

Eine nun nach dieser Methode durchgeführte Untersuchung der Malzwürze zeigte dann, dass der fragliche Peak praktisch ausschliesslich aus γ -Aminobuttersäure besteht.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass, für die gegebene Apparatur, die Methode nach WÜNSCH zur Bestimmung von Ornithin und γ -Aminobuttersäure geeigneter ist, da sie eine eindeutige Trennung und Bestimmung der beiden Aminosäuren ermöglicht. Colamin jedoch konnte nach keiner der beiden Methoden abgetrennt werden.

*Institut für Technische Mikrobiologie und Technologie der Brauerei**, K. MOLITORIS
Technische Hochschule München-Weihenstephan (Deutschland)

1 K. HANNIG, *Clin. Chim. Acta*, 4 (1959) 51.

2 Bedienungsanleitung für den Beckman "Unichrom".

3 D. H. SPACKMAN, W. H. STEIN UND S. MOORE, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1190.

4 A. WÜNSCH, *J. Chromatog.*, 30 (1967) 225.

Eingegangen den 19. Januar 1968

* Direktor: Prof. Dr. F. WEINFURTER.