

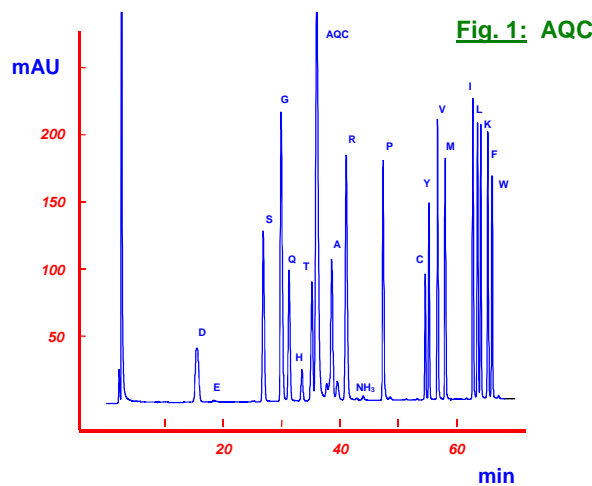
Moderne Methoden zur Analyse von Aminosäuren

- Überblick -

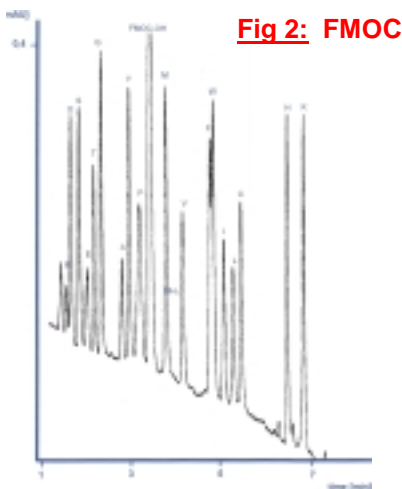
Gegenüber der klassischen Analyse der Aminosäuren mit Ninhydrin haben sich in letzter Zeit vor allem für die Analyse der proteogenen Aminosäuren die schnelleren, wesentlich empfind-

licheren und voll automatisierten Methoden der Vordersäulenderivatisierung mit anschließender Trennung durch Reversed-Phase-HPLC immer mehr durchgesetzt.

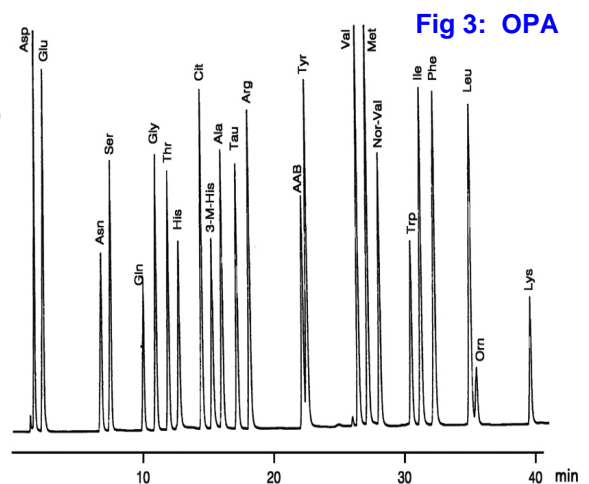
hohe Empfindlichkeit



kurze Analysenzeit



gute Auflösung



„die jeweils beste Methode ist stets ein Kompromiss“

Hervorzuheben sind wegen der sehr einfachen Durchführung und der durch Kapillar-HPLC erzielbaren niederen Nachweisgrenze die Derivatisierung mit **6-Amino-quinolyl-N-hydroxy-succinimidylcarbamate** (AQC), s. Fig. 1., wegen der Kürze der Analysenzeiten und ihrer Empfind-

lichkeit die Derivatisierung mit **9-Fluorenyl-methoxycarbonylchlorid** / 1-Aminoada-mantan (FMOCl / ADAM), s. Fig. 2, sowie vor allem wegen hohen Empfindlichkeit und hervorragender Auflösung die Derivatisierung mit **ortho-Phthaldialdehyd** / **3-Mer-captopropionsäure** (OPA / 3-MPA), s. Fig. 3.

Gängige Reagenzien für die Derivatisierung der Aminosäuren

	PITC	DABS-Cl	OPA / 3-MPA	OPA / IBCL	FMOC / ADAM	FLEC / ADAM	AQC
Stabile Reaktionsprodukte	+	+	-	+	+	+	+
Sekundäre Amine	+	+	-	-	+	+	+
Stereoselektivität, Analyse von D- u. L- Am.S.	-	-	-	+	-	+	-
Automatische Derivatisierung	±	-	+	+	+	+	+
Detektion	UV	VIS	UV und FL	UV und FL	UV und FL	UV und FL	UV und FL
Nachweisgrenze (UV bzw. FL)	≤ 10 pmol	~ 10 pmol	1 pmol bzw. ≤ 10 fmol	10 pmol bzw. ≤ 100 fmol	10 pmol bzw. ≤ 50 fmol	10 pmol bzw. ≤ 100 fmol	≤ 50 fmol
Analysenzeiten	~ 10 min	~ 35 min	~ 12 min	~ 70 min	~ 7 min	~ 75 min	20 – 60 min
Anwendungsgebiete	Proteine, Nahrungsmittel	Proteine, Nahrungsmittel	Physiologische Proben, Fermentationskontrolle	Nahrungsmittel	Proteine	Nahrungsmittel, Pharmaka	Proteine

Wegen ihrer Stereoselektivität, d.h. der Möglichkeit gleichzeitig D- neben L-Aminosäuren mit sehr hoher Empfindlichkeit quantitativ zu bestimmen, finden ferner **(+)-1-(9-Fluorenyl)-ethylchloroform**

mat / 1-Amino-adaman-tan (FLEC / ADAM), s. Fig. 4, und **ortho-Phthaldialdehyd / N-isobutryl-L-cystein** (OPA / IBCL), s. Fig. 5, immer mehr Anwendung als Derivatisierungsreagenzien.

Fig 4: FLEC

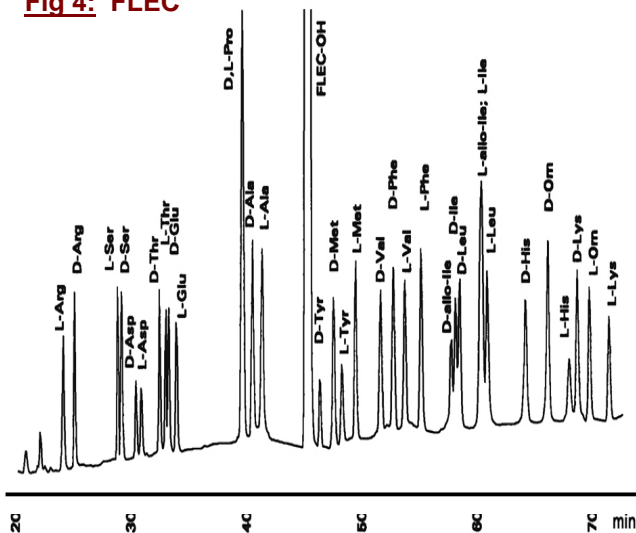


Fig 5: OPA / IBCL

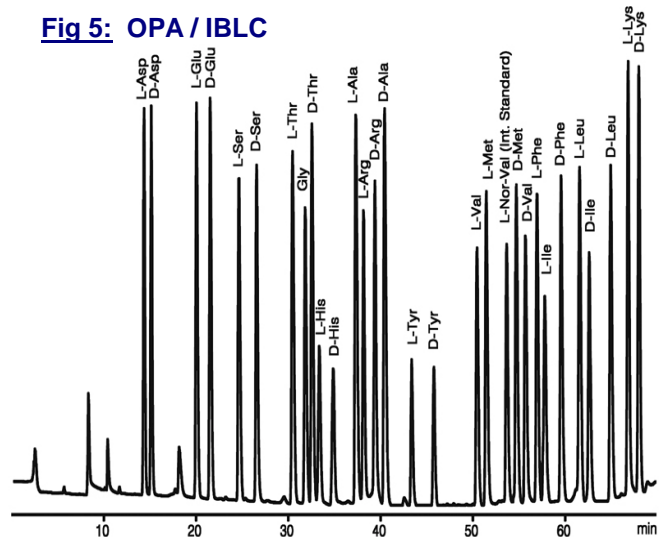


Fig 6: DABS-Cl

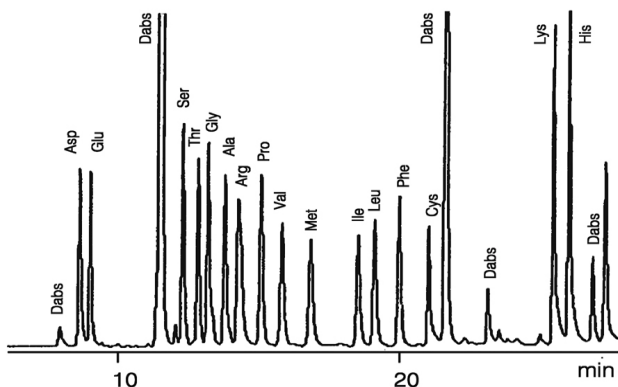
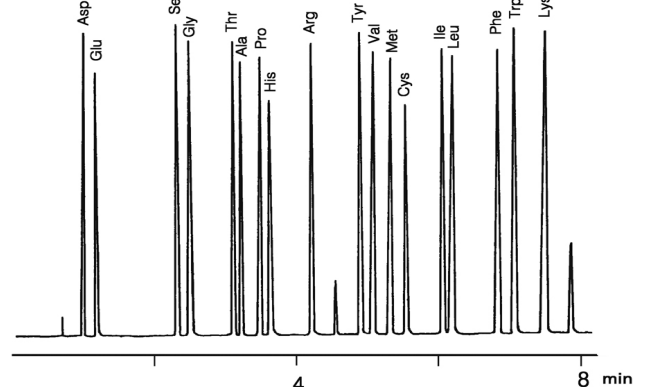


Fig 7: PITC



Primär-Literatur:

- 1) S.A. Cohen et al., Anal. Biochem. 211, 279-287 (1993)
- 2) J.Y. Chang, R. Knecht, D.G. Braun, Biochem. J. 199, 547-555 (1981)
- 3) S. Einarsson, B. Josefsson, P. Möller, D. Sanchez, Anal. Chem. 59, 1191-1195 (1987)
- 4) I. Betner, P. Földi, Chromatographia 22, 381-387 (1986)
- 5) T.A. Graser, H. Godel, S. Anders, P. Földi, P. Fürst, Anal. Biochem. 151, 142-152, (1985)
- 6) H. Brückner, P. Jack, M. Langer, h. Godel, Amino Acids 2, 271-284 (1992)
- 7) B.A. Bidlingmeyer, S.A. Cohen, T.L. Tarvin, J. Chromatogr. 336, 93-104 (1984)