

Aminósavak mikrobiológiai és papírkromatográfiás meghatározásának összehasonlítása

KOVÁCS GÁBOR és TÓTH SÁNDORNÉ

Öntözési és Rizstermesztési Kutató Intézet, Szarvas

A takarmányfehérje értékségének elbírálásához az esszenciális és félesszenciális aminosavak jelenlétének, illetve mennyiségének ismerete alapvető. A modern kémiai papír- és oszlopkromatográfiás meghatározás mellett a mikrobiológiai módszer az, amely a fehérjék analízisének az utóbbi 10—15 évben elterjedt. Intézetünkben, a hazánkban is közismert papírkromatográfiás módszer mellett a BARTON és WRIGHT a módszerkönyvben [cit 7] leírt, majd a rostoki Intézetben NEHRING és WÜNSCHE [8, 13] által módosított, illetve továbbfejlesztett mikrobiológiai módszert is alkalmazzuk. Tekintettel arra, hogy hazánkban a mikrobiológiai módszer kevésbé elterjedt, mielőtt a két módszert részben külföldi, részben saját eredményeink alapján összehasonlíttanánk, röviden ismertetjük a mikrobiológiai eljárás lényegét.

A mikrobiológiai módszer elve

Meghatározott tejsav baktérium-törzsek az igényüknek minőségileg és mennyiségileg megfelelően összeállított tápoldatban optimálisan fejlődnek. Ha a tápoldatból az igényelt aminosavak közül egy esszenciális aminosav hiányzik, az egyébként optimális körülmények ellenére sem következik be a baktériumok normális életműködése. Ha a továbbiakban ehhez a tápoldathoz a korlátozó aminosavat fokozatosan növekvő adagban hozzáadjuk, a benne élő mikroorganizmusok életműködése a hozzáadott aminosav mennyiségnek megfelelően fokozatosan erősödik, amit a termelt tejsav mennyiségéből állapítunk meg. A tejsavat 0,02 n NaOH-val visszatitráljuk, s a titrációs értékekből egy kalibrációs görbét készítünk, melyről leolvassuk a vizsgált hidrolizátum mérésénél kapott értékeket lásd az 1. ábrát [12]. A standard oldatunkat nyolc koncentrációban háromszoros ismétlésben készítjük el. A standard oldat a mi esetünkben L lizin 40 γ /ml, melyet úgy pipettázunk, hogy a kémcsövekben 10—20—30—40—60—70—80—100 γ lizin legyen. Desztillált vízzel egysegesen feltöltjük 2,5 ml-re. A kontroll kémcsőbe 2,5 ml desztillált vizet pipettázunk. Minden koncentrációt háromszoros ismétléssel készítünk el, tehát a standard oldatunkhoz összesen 24 kémcső szükséges. A vizsgálati anyagunkból hidrolizátumot a várható aminosav-tartalom alapján a standardnak megfelelően hígítjuk.

Mind a standard, mind a hidrolizátum hígítást semleges (6,7—7) pH-ra állítjuk. Mindegyik kémcsőbe pipettázunk 2,5 ml lizin mentes tápoldatot.

A baktériumtörzsek és kezelésük:

Az egyes aminosavak meghatározását a következő tejsavbaktériumtörzsekkel végezzük:

Lactobacillus plantarum (ATCC 8014)

Leucin, isoleucin, valin és triptophan

Leuconostoc mesenteroides P 60 (ATCC 8042)

Lizin, phenilalanin, histidin, methionin, tirozin, cistin

Streptococcus faecalis (ATCC 9790)

Arginin, threonin

A baktériumtörzseket speciális, a lactobacillusoknak megfelelő táptalajon tenyésztjük, amelynek összetétele HAENEL [1] adatai szerint 20% paradicsomlé, 1% peptonizált tej, 1% tripsin-pepton, 1% glucose, 1% élesztő-kivonat, 0,5% nátriumklorid és 1,5% agar-agar. A táptalaj előállításához — hasonlóan a többi mikrobiológiai vizsgálatnál használt oldatokhoz — desztillált vizet használunk. Az átoltás utáni inkubálás 37 °C-on 24 óráig tart. A tenyészeteket 4 °C-on hűtőszekrényben tároljuk. A törzsek fenntartása havonkénti átoltással történik.

Az oltóanyag:

A törzseket felhasználás előtt 5 ml steril folyékony táptalajba átoltjuk, amelynek összetétele megegyezik a fent leírttal, agar-agar nélkül. Átoltás után 37 °C-on inkubálás 18—20 órán át, majd a zavarossá vált szuszpenziót steril körülmények között lecentrifugáljuk (10 perc 3000 fordulat), dekantáljuk és 0,9%-os steril fiziológiás oldattal háromszor átmoszuk.

Ezután a kapott szuszpenzióhoz 5 ml 0,9%-os fiziológiás oldatot öntünk, fehérszűzük s egy előre elkészített 100 ml-es Erlenmeyer lombikba öntjük, melyben steril 0,9%-os NaCl oldat van (arány 1:8, 1:10). A baktérium átoltást s minden olyan munka mozzanatot, melynél fertőzés léphet fel, steril-fülke alatt, gázláng felett végezzük. A fülkét 40%-os propanollal fertőtlenítjük.

A tápoldat

A tápoldat A, B, C, D részeit külön-külön bemérjük, tetszés szerint 10, 20 l tápoldathoz is előre, s a vizsgálatkor szükséges oldathoz a szükséges mennyiséget már az előre elkészített keverékekből vesszük ki.

Az elkészített tápoldatot, melynek összetétele NEHRING és WÜNSCHE [13] munkájában van leírva szintén semleges pH-ra állítjuk be. A kémcsőbe adagolás után (2,5 ml) a kémcsövet vatta-dugóval bedugaszolva, 3 percig 1 atm. nyomás alatt sterilizzük, majd a megfelelő baktérium kultúrával beoltjuk. 70 órai inkubálás után a termelt tejsav mennyiségét titráljuk vissza brómthimolkék indikátor jelenlétében.

A termelt aminosav mennyisége a baktériumok működésének kifejezője, mely viszont a különböző mennyiségben jelenlevő korlátozó aminosavra vezethető vissza.

A kapott értékekből készítünk egy kalibrációs görbét, melyről a vizsgált anyag titrációs értékét leolvassuk.

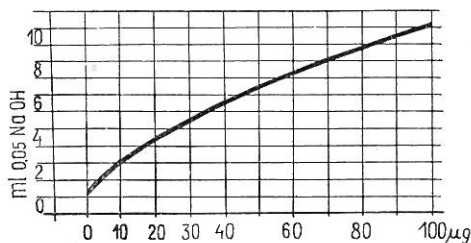
A papírkromatográfiával való mérésünket 1 dimenziós felszálló módszerrel végezzük, futtató oldatunk butanol-ecetsav-víz 4 : 1 : 1 arányban [5,

9, 11]. Vizsgálendő anyagunkat a papírcsík alján hídyszerűen kivágott részen mosatjuk át, a csíkokat kétszer emeljük ki.

A foltok kiértékelését densitóméterrel végezzük 2 mm-es léptékkel. Végeztünk összehasonlító vizsgálatot a kioldásos és densitóméterrel való értékelés között ismert mennyiségű aminosav visszamérésével és úgy találtuk, hogy az esetek 50%-ában közelítette meg jobban a kioldásos módszer az elméleti értéket, így az egyszerűbb és takarékosabb megoldásnak a densitóméteres eljárást választottuk, minden ismert tévedéseivel számolva is.

A módszer összehasonlításához 5 anyagot vizsgáltunk meg abból a célból, hogy a változó fehérjetartalom, ezen belül változó aminosavtartalom esetén is meggyőződjünk egyik vagy másik módszer biztonságosságáról.

Az irodalomban [8] találtunk olyan eredményeket, melyek az egy vizsgálat ismétlései közötti szórásokat, valamint a különböző időben végzett meghatározások egymás közötti összefüggéseit, illetve szórásait vizsgálták mind a papírkromatográfiai, mind a mikrobiológiai módszer alkalmazása esetén (1. táblázat).



1. ábra
Az L-lizin standard görbéje

1. táblázat

Papírkromatográfiai (P) és mikrobiológiai (M) aminosav meghatározás átlagos szórása (WÜNSCHE [13] adatai)

(1) Vizsgált aminosavak	(2) Közepes szórás egy vizsgálati szérián belül		(3) Közepes szórás az egyes vizsgálati szériák között	
	P	M	P	M
Arginin	10,1	4,8	7,1	5,1
Hisztidin	16,8	3,1	16,4	3,7
Lizin	8,5	6,7	4,9	6,4
Metionin	17,8	5,3	11,5	3,9
Cisztin	19,6	11,0	17,1	10,8
Treonin	9,5	4,3	4,5	3,7

Saját vizsgálatunkban azoknak az aminosavaknak a szórását hasonlítottuk össze, melyek az állati takarmányozásban létfontosságúak, illetve a papírkromatográfiai meghatározásnál jól szétválaszthatók.

A módszerek pontosságának, megbízhatóságának értékelésénél a vizsgálati szériák szórásának az átlagát találtuk legkifejezőbbnek, melyet a 2. táblázatban foglaltunk össze.

A táblázat adatai azt mutatják, hogy a kapott értékek több széria, szérián belül 6-szoros ismétlés és több anyag vizsgálati értékét összevetve, a mikrobiológiai módszer sokkal kisebb szórással dolgozik, mint az egydimenziós papírkromatográfiai módszer.

Az átlag értékek, melyek nagyszámú vizsgálati érték átlagos szórása %-át jelentik, azt bizonyítják, hogy a vizsgált 4 aminosav közül az arginin,

2. táblázat

A vizsgálati szériák szórásának átlagai %-ban

(1) Vizsgált anyag	(2) Papírkromatográfiás				(3) Mikrobiológiai			
	módszer							
	Argi- nin	Hisz- tidin	Lizin	Cisztin	Argi- nin	Hiszti- din	Lizin	Cisztin
a) Mv-1 kukorica	17,1	21,2	23,2	33,1	3,89	3,71	6,72	7,19
b) Virágzás kezdetén kaszált lucerna	17,2	23,9	15,1	28,3	3,80	6,15	1,62	12,65
c) 30 cm magasságban kaszált lucerna	17,7	11,6	24,6	56,9	6,13	5,21	5,99	8,84
d) Halliszt (ponty)	18,2	24,1	12,9	16,9	2,70	5,48	6,36	8,06
Átlag	17,5	20,2	18,9	33,8	4,13	5,18	5,17	9,18

hisztidin és a lizin szórása 5% körül mozog. A kén tartalmú cisztin meghatározása ezzel szemben mikrobiológiai módszerrel is bizonytalanabb, s bár a négy anyag átlagában 9,18, egyes esetekben 10% feletti hibával is számolnunk kell.

A papírkromatográfiai módszernél kapott szórások megközelítően meg-egyeznek az irodalmi adatokkal, s alkalmazásánál a MATTHIAS [6] által felsorolt hibákkal számolnunk kell.

A módszerek megbízhatóságának további értékelése érdekében ismert mennyiségű aminosavakból oldatot készítettünk, melyet megfelelve, felét

3. táblázat

Papírkromatográfiai és mikrobiológiai módszer hasonlítása ismert összetételű aminosav oldat alapján

(1) Vizsgált aminosavak	(2) Bemért mennyiség mg/100 ml	(3) Kezelés	(4) Papírkromatográfiai			(5) Mikrobiológiai		
			módszerrel visszamért mennyiség					
			mg/100 ml	%	Közepes szórás	mg/100 ml	%	közepes hiba
Arginin	240	hidrolizált	293	122	14,15	225	93,7	3,30
		nem hidrolizált	276	115	19,50	226	94,3	2,89
Hisztidin	92	hidrolizált	134	146	21,45	121	131,8	1,90
		nem hidrolizált	121	132	17,20	127	138,7	7,18
Lizin	150	hidrolizált	186	124	16,30	146	97,2	8,32
		nem hidrolizált	147	98	19,37	148	99,0	2,91
Cisztin	195	hidrolizált	353	181	15,49	199	102,0	2,59
		nem hidrolizált	129	66	26,84	212	109,0	4,33

hidrolizálás után, a másik felét eredeti állapotban mind a két módszerrel megvizsgáltuk. A kapott eredmények azt mutatják, hogy az elméleti értékekből mennyit, s milyen szórással mér vissza egyik, illetve másik módszer.

A táblázat adatai szerint — melyet a két módszer alkalmazása során kapott egyéb eredmények is feltételezni engednek — a mikrobiológiai módszerrel kapott értékek ugyanazon vizsgálati anyagot alapul véve az esetek többségében alacsonyabbak [4], mint a papírral mérték. A papírkromatográfiánál kapott, a valóságnál többnyire magasabb visszamért értékeket irodalomban már más szerzők [6] megindokolták.

A továbbiakban számításokat végeztünk arra nézve, hogy a két módszer között szignifikáns különbség van-e, illetve milyen szinten van.

4. táblázat

A két módszer összehasonlítása F próbával

(1) Vizsgált aminosavak	S_P^o	S_P^o	(2) Számított F érték	(3) Táblázati F érték	F G
Hisztidin	2,636	0,209	12,59***	2,23	45
Arginin	1,749	1,255	1,93*	1,65	45
Lizin	5,735	1,345	4,26***	2,23	45
Cisztin	0,880	0,032	27,49***	2,23	45

*SD_{5%}, **SD_{1%}, ***SD_{0.1%}

A két módszer összehasonlítása során arra a meggyőződésre jutottunk, hogy a mikrobiológiai módszer kisebb szórással dolgozik és a valóságos értéket jobban megközelíti a mi körülményeink között.

Különösen jól alkalmazható, ha egyidőben több anyag 2—3 aminosav tartalmát akarjuk meghatározni. Laboratóriumunkban 2 laboráns 14 nap alatt 18 mintát tud 3 aminosavra analizálni. Tehát olyan vizsgálatnál, ahol 2—3 aminosav alakulása érdekes, a mikrobiológiai módszer jó szolgálatot tesz [14]. Amennyiben más körülmény nem teszi szükségessé, hogy egy adott mintából mind a 12 aminosavat egyidőben vizsgáljuk, a standardhoz szükséges aminosavval való takarékoság érdekében ajánlatos 1 standarddal több anyagot vizsgálni.

A mikrobiológiai módszer hátrányául lehet felhozni, hogy a kérdéses aminosavakat nem közvetlen határozza meg, hanem azok mennyiségét a bakteriumok életműködéséből, illetve a termelt tejsav mennyiségéből kell visszszámolni [14].

Összefoglalás

Az aminosav meghatározására alkalmazható mikrobiológiai módszer rövid ismertetése.

A papírkromatográfiai és mikrobiológiai módszer összehasonlítása ismert mennyiségű aminosav visszamérése, valamint a vizsgálati szériák szórásainak átlaga alapján. Összehasonlítást végeztünk a két módszer F próbájával is. A kapott adatok alapján a mikrobiológiai módszer a valóságos értéket jobban megközelíti, s a szórása 5% körül van.

Irodalom

- [1] HAENEL, H.: Mikrobiologische Bestimmung von Vitaminen des Komplexes in Rosskastanien und Holundersäften. *Die Pharmazie*, **9**, 489—495, 1964.
- [2] HILL, H.: Zur Methodik der mikrobiologischen Aminosäurebestimmung. *Arch. Tierernähr. Beih.* **5**, 135—145, 1954.
- [3] HORN, M. J., BLUM, A. E., GERSDORFF, C. E. F. & VARREN, H. W.: Sources of error in microbiological determinations of amino acids on acid hydrolysates. I. Effect of humin on amino acid values. *J. Biol. Chem.* **203**, 907—913, 1953.
- [4] SCHRÖDER, I.: Bericht über die Auswertung der von der Forschungsgemeinschaft »Eiweiss in der Tierernährung« organisierten Aminosäuren-Enquete. *Tagungsberichte Nr 64*, 33—37. in: *Probleme der Eiweissanalytik*. D. Akad. Landw. Berlin, 1964.
- [5] JÉCSEI, GY.-NÉ: Néhány hazai takarmányféleség aminosavösszetétele. *Állattenyésztés*, **13**, 165—170, 1964.
- [6] MATTHIAS, W.: Chromatographische Methoden zur Bestimmung von Aminosäuren auf Grund der Erfahrungen des »Quedlinburger Arbeitskreises für Eiweissanalytik«. *Tagungsberichte Nr 64*, 7—21. in: *Probleme der Eiweissanalytik*. D. Akad. Landw. Berlin, 1964.
- [7] *Methodenbuch IV*. Methoden zur chemischen und biologischen Qualitätbestimmung von gärtnerischen und landwirtschaftlichen Erzeugnissen. Berlin, Neumann-Verl. **2**, 1953.
- [8] NEHRING, K. & WÜNSCHE, J.: Ergebnisse vergleichender Aminosäurebestimmungen nach papierchromatographischem und mikrobiologischem Verfahren. *Pharmazie* **19**, 128—133, 1964.
- [9] PÁLFI, G.: A nátriumsók hatása a rizshajtás nitrogén, foszfor és aminosav tartalmára. *Agrokémia és Talajtan*, **12**, 361—376, 1963.
- [10] PRESCOLT, J. M., SCHWEIGERT, B. S., LYMAN, C. M. & KNIKEN, K. A.: The effect of D tryptophan on the utilization of the L isomer by some lactic acid bacteria. *J. Biol. Chem.* **178**, 727—732, 1949.
- [11] SZÁSZ, GY.: *Papírkromatográfia és vékonyréteg-kromatográfia*. Medicina. Budapest, 1964.
- [12] VOOD, E. C.: The computation of microbiological assays of amino-acids and other growth factors. *Analyst*, **72**, 84—90, 1947.
- [13] WÜNSCHE, J.: Beitrag zur Methodik der mikrobiologischen Aminosäurenbestimmung. *Beiträge aus der Agrikulturchemie zu Problemen der Forschung und Praxis*. Akad. Verl. Berlin, 1958.
- [14] WÜNSCHE, J.: Über die Anwendung der mikrobiologischen Methode zur Bestimmung des Gehaltes an Aminosäuren. *Tagungsberichte Nr. 64*, 23—32. *Probleme der Eiweissanalytik*. Berlin, 1964.

Érkezett: 1965. szeptember 1.

Data to the Comparison of Paper Chromatographic and Microbiological Methods Used to Determine Amino Acids

G. KOVÁCS and S. TÓTH

Research Institute for Irrigation and Rice Growing, Szarvas (Hungary)

Summary

A short review of the microbiological method applicable for the determination of amino acids.

The paper chromatographic and microbiological methods were compared on the basis of the remeasurement of a known quantity of amino acid as well as on that of the mean deviations of the test series.

In accordance with several foreign publications, in our examinations up till now usually lower values, approximating the theoretical value better, have been remeasured with the microbiological method, taking the same test material as our basis.

The data obtained by comparing the two methods on the basis of the F-test indicate that the difference between the values remeasured according to the two different methods was 0,1 per cent in the case of lysine, histidine, cystine from among the four amino acids examined, while in the case of arginine it was significant at an error level of 5 per cent.

The mean deviations of the test series amount to 17-33 per cent in the case of the paper chromatographic method and to 4-18 per cent in the case of the microbiological method.

The application of the microbiological method is especially justified if the quantities of 2-3 amino acids, that is the changes in their quantities are to be examined in numerous samples.

Figure 1. The standard curve of L-lysine.

Table 1. The mean deviation of the paper chromatographic (P) and microbiological (M) amino acid determinations. (Data obtained by WÜNSCHE [13]). (1) The examined amino acids. (2) Mean deviation within one test series. (3) Mean deviation among the different test series.

Table 2. The mean deviation of the examined series in per cent. (1) Examined substance: a) Mv-1 maize, b) alfalfa hayed at the beginning of flowering, c) alfalfa hayed at a height of 30 cm, d) fish-flour (2) Paper chromatographic method. (3) Microbiological method.

Table 3. Comparing the paper chromatographic and microbiological methods on the basis of an amino acid solution of known composition. (1) The examined amino acids. (2) Measured quantity, mg/100 ml. (3) Treatment: hydrolysed, non-hydrolysed. (4) Quantity remeasured with the paper chromatographic method, mg/100 ml, percental- and mean deviation. (5) Quantity remeasured with the microbiological method, mg/100 ml, percental and mean deviation.

Table 4. Comparing the two methods with the F-test. (1) The examined amino acids. (2) Calculated F value. (3) Tabular F value.

Données concernant la comparaison de la méthode de chromatographie sur papier et d'une méthode biologique employées pour la détermination des aminoacides

G. KOVÁCS et S. TÓTH

Institut de Recherches de l'Irrigation et de la Culture du Riz, Szarvas (Hongrie)

Résumé

Description sommaire de la méthode microbiologique employée pour la détermination des aminoacides.

Pour comparer les deux méthodes en question les auteurs ont dosé des quantités connues d'aminoacides et ont établi la moyenne des écarts des séries d'examinations.

Dans leurs expériences, en accordance avec plusieurs auteurs étrangers, ils ont ordinairement obtenu par la méthode microbiologique — avec la même matière — des résultats plus bas, plus proches de la valeur théorique.

La comparaison des deux méthodes par l'épreuve F a donné que la différence des valeurs obtenues par récupération des quantités initiales des 4 aminoacides examinés, est significative dans le cas de l'histidine, de la lysine et de la cystine au niveau d'erreur de 0,1%, et dans le cas de l'arginine au niveau de 5%.

Les moyennes des écarts des séries examinées sont 17-33% pour la chromatographie sur papier, et 4-18% pour la méthode microbiologique.

L'emploi de la méthode microbiologique est indiqué surtout si l'on a pour but d'étudier dans un grand nombre d'échantillons la quantité et, respectivement, les changements de 2-3 aminoacides.

Fig. 1. Courbe standard de la L-lysine.

Tableau 1. Ecart moyen du dosage des aminoacides par chromatographie sur papier (P) et par la méthode microbiologique (M), données de WÜNSCHE (13). (1) Aminoacides examinés. (2) Ecart moyen dans une série d'examination.

Tableau 2. Les moyennes des écarts des séries examinées en pour cent. (1) Matière examinée. a) maïs Mv-1, b) luzerne fauchée au commencement de la fleuraison, c) luzerne fauchée haute de 30 cm, d) farine de poisson. (2) Chromatographie sur papier. (3) Méthode microbiologique.

Tableau 3. Comparaison de la méthode chromatographique sur papier et de la méthode microbiologique d'après des solutions d'acides aminés à teneur connue. (1) Acides aminés. (2) Quantité employée mg/100 ml. (3) Traitement: hydrolysée et non hydrolysée. (4) Quantité récupérée par la méthode chromatographique, mg/100 ml, pour cent et écart moyen. (5) Quantité récupérée par la méthode microbiologique, mg/100 ml, pour cent et écart moyen.

Tableau 4. Comparaison des deux méthodes selon l'épreuve F. (1) Acides aminés examinés. (2) Valeur F calculée. (3) Valeur F du tableau.

Сравнение данных определения аминокислот обычным методом бумажной хроматографии и биологическим методом

Г. КОВАЧ и М. ТОТ

Научно-Исследовательский Институт Орошения и Рисоводства, Сарваш (Венгрия)

Резюме

Краткое описание microbiологического метода определения аминокислот.

Сравнение бумажнохроматографического и биологического метода провели обратным измерением известного количества аминокислот, а также на основе средних данных дисперсий изученных серий.

В проведенных до сих пор исследованиях величины полученные microbiологическим методом, как правило, более низкие, это согласуется с результатами, опубликованными в зарубежной литературе, связанной с этим вопросом (при одинаковом исходном материале для исследования), данные полученные обратным измерением более приближаются к теоретическим величинам.

Результаты, полученные на основании сравнения двух методов по критериям значимости «F», показали, что между величинами полученными обратным измерением для четырех аминокислот достоверная вероятность для хистидина, лизина, цистина была на уровне 0,1%, для аргинина — 5%.

В исследованных сериях при определении методом бумажной хроматографии получили средние дисперсии порядка 17—33%, а microbiологическим методом 4—18%.

Применение microbiологического метода более обосновано при определении содержания 2—3 аминокислот, или их изменения в большом количестве образцов.

Табл. 1. Средняя дисперсия в количестве аминокислот, определенных методом бумажной хроматографии (P) и microbiологическим методом (M) (по WÜNSCHE [13]). (1) Изученные аминокислоты. (2) Средняя дисперсия в одной серии определения. (3) Средняя дисперсия между отдельными сериями определения.

Табл. 2. Средняя дисперсия в изученных сериях в %. (1) Изученный материал. a) кукуруза, сорт Mv — 1. в) люцерна скошенная в начале цветения, c) люцерна скошенная при высоте стеблестоя в 30 см, d) рыбная мука. (2) Методом бумажной хроматографии. (3) Microbiологическим методом.

Табл. 3. Сравнение методов бумажной хроматографии и microbiологического метода на основе раствора, содержащего известное количество аминокислот. (1) Изученные аминокислоты. (2) Количество отмеренной аминокислоты в мг/100 мл, %. (3) Варианты: гидролиз и без гидролиза. (4) Количество аминокислот, полученное обратным измерением методом бумажной хроматографии в мг/100 мл и %, и средняя дисперсия. (5) Количество аминокислот полученное обратным измерением microbiологическим методом в мг/100 мл, % и средняя дисперсия.

Табл. 4. Сравнение двух методов критерием значимости «F». (1) Изученные аминокислоты. (2) Вычисленная величина «F». (3) Величина «F» взятая из таблиц.

Рис. 1. Кривая стандарта L-лизина.