

Предел обнаружения для большинства ФТК-производных аминокислот обычно составляет 1 пмоль. Линейность сигнала наблюдается в области 20 – 500 пмоль с коэффициентом корреляции более 0,999. Для получения удовлетворительных результатов рекомендуется использовать для гидролиза образцы белка/пептида массой более 500 нг.

МЕТОД 4. Предколоночная дериватизация с 6-аминохинолил-N-гидроксисукцинимидилкарбаматом (АХК)

АХК реагирует с аминокислотами с образованием стабильных флуоресцирующих несимметричных производных мочевины (АХК-аминокислот), которые определяют методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием.

Разделение АХК-производных аминокислот методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на колонке, заполненной октадецилсиликагелем, достигается подбором концентрации ацетонитрила в подвижной фазе и ионной силы буферного раствора. Селективное флуоресцентное детектирование производных при длине волны возбуждения 250 нм и при длине волны эмиссии 395 нм допускает прямой ввод реакционной смеси без существенного мешающего влияния единственного флуоресцирующего побочного продукта разложения АХК – 6-аминохинолина. Избыток реактива быстро гидролизуется ($t_{1/2} < 15$ с) с образованием 6-аминохинолина, N-гидроксисукцинимиды и диоксида углерода, а через 1 мин образование производных становится невозможным.

Площади пиков для АХК-аминокислот, не изменяются значимо, по меньшей мере, в течение 1 недели при хранении растворов при комнатной температуре. Следовательно, АХК-аминокислоты обладают более чем достаточной стабильностью для проведения круглосуточного автоматического хроматографического анализа. Предел обнаружения для