

прежде, после их превращения, соответственно, в диаминопропионовую и диаминомасляную кислоты под действием бис-(1,1-трифторацетокси)-йодбензола, как указано в методе 11, описанном в разделе «Гидролиз белка».

В качестве внутреннего стандарта для этого метода не может быть использован норлейцин, так как его производное элюируется в области хроматограммы со скоплением пиков производных первичных аминокислот. В качестве внутреннего стандарта используют нитротирозин, который элюируется в свободной от пиков области хроматограммы.

Предел обнаружения ДАБС-аминокислот обычно составляет 1 пмоль. Предел количественного определения ДАБС-аминокислот составляет 2 – 5 пмоль. Для проведения одного анализа требуется всего лишь 10 – 30 нг дериватизированного ДАБС-С1 белкового гидролизата.

МЕТОД 7. Предколоночная дериватизация с 9-фторенилметилхлорформиатом

ФМОК-С1 взаимодействует с первичными и вторичными аминокислотами с образованием производных с сильной флуоресценцией. Реакция протекает в мягких условиях в водном растворе в течение 30 с. Получаемые производные аминокислот стабильны, за исключением производных гистидина, подвергающихся постепенной деградации. Несмотря на то, что ФМОК-С1 сам по себе обладает флуоресценцией, избыток реагента и флуоресцирующие побочные продукты реакции могут быть удалены из реакционной смеси без потерь ФМОК-производных аминокислот.

ФМОК-аминокислоты могут быть разделены на колонке, заполненной октадецилсиликагелем, методом обращенно-фазовой ВЭЖХ. Разделение проводят по программе градиентного элюирования с линейным изменением состава подвижной фазы от смеси «ацетонитрил : метанол : ацетатный буферный раствор» (10:40:50 (об./об./об.)) до смеси «ацетонитрил : ацетатный буферный раствор» (50:50 (об./об.)), что позволяет разделить 20