

МЕТОД 9. Использование масс-спектрометрического детектирования для определения производных аминокислот, полученных предколоночной дериватизацией.

Масс-спектрометрическое детектирование в режимах мониторинга по выделенным ионам (MS) или мониторинга множественных реакций (MS/MS) с электрораспылительной или химической ионизацией при атмосферном давлении позволяет проводить высокочувствительное и селективное определение производных аминокислот после предколоночной дериватизации с различными реагентами, описанными выше. Разделение производных аминокислот обычно осуществляется методом обращенно-фазовой ВЭЖХ в режиме градиентного элюирования при использовании элюентов на основе легколетучих компонентов (органические кислоты и их аммонийные соли, гидрокарбонат аммония, аммиак и алкиламины и пр.). Высокая селективность масс-спектрометрического детектирования позволяет выполнять экспрессный анализ сложных смесей аминокислот без необходимости достижения полноты разделения критичных пар и групп пиков. Пределы обнаружения производных аминокислот обычно составляют несколько нг/мл.

Использование масс-спектрометрического детектирования для определения нативных аминокислот также возможно, однако характеризуется значительно меньшей чувствительностью.

МЕТОД 10. Определение нативных аминокислот с импульсным амперометрическим детектированием

Аминокислоты в белковом/пептидном гидролизате разделяются ионохроматографически на колонке, заполненной гидрофобной полимерной анионообменной смолой с тетраалкиламмониевыми функциональными группами. Разделение проводят в градиентном режиме путем изменения концентрации гидроксид- и ацетат-ионов в водном элюенте. Детектирование аминокислот в элюате осуществляется при помощи импульсного