производных аминокислот в течение 20 мин. Элюируемые из колонки производные аминокислот детектируют при длине волны возбуждения 260 нм и длине волны эмиссии 313 нм.

Пределы обнаружения производных аминокислот находятся в нижнем фемтомолярном диапазоне. Линейность сигнала для большинства аминокислот наблюдается в области 0,1 – 50 мкмоль/л.

МЕТОД 8. Предколоночная дериватизация с 7-фтор-4-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом (НБФ)

7-фтор-4-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом (7-фтор-4-нитробензофуразан, НБФ) взаимодействует с первичными и вторичными аминокислотами с образованием производных с сильной флуоресценцией. Аминокислоты дериватизируются НБФ в течение 5 мин при температуре 60 °С.

НБФ-производные аминокислот могут быть разделены на колонке, заполненной октадецилсиликагелем, методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием программы градиентного элюирования и подвижной фазы, состоящей из ацетонитрила и водного буферного раствора. В результате 17 производных аминокислот разделяются в течение 35 мин. В качестве внутреннего стандарта может быть использована ε-аминокапроновая кислота, которая элюируется в свободной от пиков области хроматограммы. Элюируемые из колонки производные аминокислот детектируют при длине волны возбуждения 480 нм и длине волны эмиссии 530 нм.

Чувствительность этого метода почти такая же, как в предколоночной дериватизации с ОФА (метод 5), за исключением пролина, который не реагирует с ОФА (преимущественное отличие метода с НБФ). Предел обнаружения для каждой аминокислоты составляет около 10 фмоль. Анализ проводят с использованием 1,5 мг белкового гидролизата в предколоночной реакционной смеси.