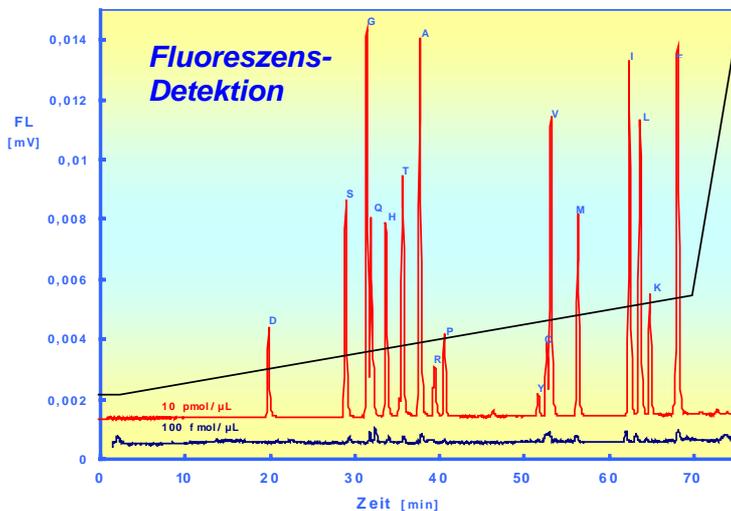
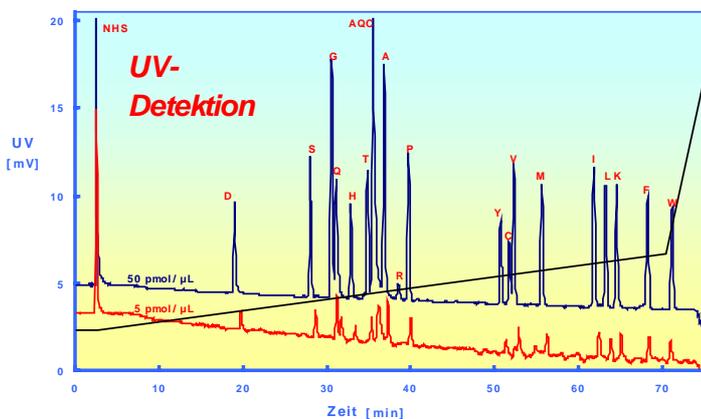


Hoch empfindliche Aminosäurenanalyse durch **Microbore- und Kapillar-HPLC**, sowie **Vordersäulenderivatisierung mit 6-Aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl-carbamat (AQC)**

Neben der konventionellen Aminosäurenanalyse durch Nachdersäulenderivatisierung mit Ninhydrin haben sich in jüngster Zeit die beiden Methoden der Vordersäulenderivatisierung mit ortho-Phthaldialdehyd (OPA) und 9-Fluorenyl-methoxycarbonyl-chlorid (FMOC) immer mehr durchgesetzt. Die Stärke dieser beiden Methoden besteht in ihrer hohen Empfindlichkeit (≥ 10 fmol) und den kurzen Analysenzeiten (10 – 30 Min.). Einer der gravierenden Nachteile dieser Methoden besteht jedoch darin, daß bei empfindlicher Fluoreszenzdetektion Tryptophan wegen intra-molekularen Quenchings (Fluoreszenzlöschung), wenn überhaupt so doch nur sehr schlecht bestimmt werden kann. Ferner reagiert OPA nur mit primären, aber nicht mit sekundären Aminen wie z.B. Prolin oder Hydroxyprolin.

Stationäre Phase: GROM Saphir 110 C18 - 3 μ m
Säule: 150 mm x a) / b) -2 mm bzw. c) -0.30 mm
Eluent A: 50 mM Na-acetat pH 5.75,
B: 70 % ACN - 50 mM Na-acetat pH 6.0 (v/v)
Gradient a) / b): 2% (0 – 2,5 min), 2 – 30% (2,5 – 70 min),
30 – 70% (70 – 75 min) ;
c) : 2 – 10% (0 – 30 min), 10 – 60% (30 – 80 min)
Fluß (lin. vel.): 1.06 mm/s
Temperatur: 45°C
Detektor (UV): 254 nm, Flußzelle: a) 3 mm / 1,2 μ l; c) 10 mm / 45 nL
" (FL): 250 nm exc., 395 nm em., Flußzelle: b) 2 mm / 3 μ l
Injektion: a) u. b) 1 μ L bzw c) 150 nL bzw. 80 nL
Probe: standard, ~ 10 pMol je Aminosäure



Durch Vordersäulenderivatisierung der Aminosäuren mit **6-Aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl-carbamat (AQC)** und anschließender chromatographischer Trennung durch Kapillar- oder nano-HPLC konnten diese Nachteile überwunden werden. D.h. wegen der hohen UV-Absorption der AQC-Adukte (254 nm) kann durch Kapillar-HPLC zumindest die gleiche, hohe Empfindlichkeit (≥ 10 fmol) erzielt werden wie sonst bei konventioneller HPLC mit Fluoreszenzdetektion. AQC reagiert sowohl mit primären als auch sekundären Aminosäuren. Die Methode besticht ferner durch sehr einfache Derivatisierung, überschüssiges Reagenz muß nicht entfernt werden, und die AQC-Adukte sind noch stabiler als die des FMOC's.

