РАЗДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОННОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Белькин Е.А., Лебедева Е.Л., Неудачина Л.К.
Уральский федеральный университет
620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, д. 19

Аминокислоты входят в состав физиологических жидкостей как в свободной форме, так и в связанной (пептиды и белки). Изменение концентраций аминокислот приводит к различным заболеваниям иммунной, эндокринной и нервной систем (диабет, гипогликемия, раздражительность, частые простудные заболевания и многое другое).

Для определения аминокислотного состава применяются хроматографические методы анализа, а также капиллярный электрофорез. Последний характеризуется высокой эффективностью, низкой себестоимостью анализа, требует малого расхода реактивов. Целью данной работы является применение метода капиллярного зонного электрофореза для разделения и определения аминокислот в сложных смесях.

Определение двадцати свободных протеиногенных аминокислот проводили при разных значениях pH. При использовании буферного раствора на основе гидрофосфата и дигидрофосфата натрия в кислой среде (pH = 1,98) разделения аминокислот не наблюдали: на электрофореграмме (ЭФГ) присутствовал только один пик, соответствующий всем аминокислотам в пробе. Добавление к фоновому электролиту метанола способствует улучшению разделения, но не позволяет получить отдельные пики для большинства исследованных аминокислот.

Применение фонового электролита на основе тетраборатного буферного раствора с pH 9,22 способствует лучшему разделению аминокислот. При длине волны детектирования 200 нм на ЭФГ были зарегистрированы пики глицина, метионина, валина, аспаргиновой кислоты, аргинина, серина, гистидина и треонина. Ароматические аминокислоты (фенилаланин, тирозин, триптофан, гистидин и пролин) детектировали при длине волны 235 нм, соответствующей максимуму поглощения ароматического кольца. Таким образом, по данной методике возможно разделение 12 аминокислот, однако чувствительность определения невысока. Результаты обеих методик оказались воспроизводимыми.

Для селективного разделения и снижения предела обнаружения аминокислот проводили их дериватизацию с помощью раствора фенилизотиоцианата в пропаноле-2. В качестве ФЭ для разделения ФТК-производных применяли фосфатный буферный раствор (pH = 7,78) с добавкой β-циклодекстрина, который проявляет анионную селективность в щелочной среде. Данная методика позволила одновременно определить 13 аминокислот в пробе.