

### M03.003

## Determination of amino acids by HPLC-FLD after derivatisation

<b>Nummer</b>	M03.003
<b>Version</b>	02
<b>Titel deutsch</b>	Aminosäuren-Analyse mittels HPLC-FLD nach OPA-/FMOC-Derivatisierung (Poroshell-Säule)
<b>Autor/in</b>	Jörg Carstens
<b>Analyten</b>	Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Gly, Thr, Arg, beta-Ala, Ala, Tyr, Cys, Val, Met, Trp, Phe, Iso-Leu, Leu, Orn, Lys, Pro
<b>Instrument</b>	LC-FLD, Agilent 1260 mit Jasco FP 2020 Plus
<b>Gültig ab</b>	19.10.2017
<b>Freigegeben durch</b>	Heike Frerichs
<b>Kurzbeschreibung (deutsch)</b>	Gelöste freie Aminosäuren werden direkt aus der zentrifugierten Probe analysiert. Falls nötig können störende Proteine mit 3%iger Perchlorsäure ausgefällt werden. Sollen auch die in Proteinen und Peptiden gebundenen Aminosäuren erfasst werden oder handelt es sich um feste Proben, wird eine vorherige Hydrolyse mit HCl durchgeführt. Die Analyse erfolgt mit reversed-Phase Chromatographie nach Vorsäulenderivatisierung mit OPA (o-Phthaldialdehyd) in Gegenwart von Boratpuffer und Injektionslösung. Nach der Trennung wird die Probe mit dem Fluoreszenzdetektor (FLD) gemessen. Prolin und Hydroxyprolin reagieren nicht mit OPA und können bei Bedarf stattdessen mit FMOC (Fluorenylmethyloxycarbonylchlorid) derivatisiert werden.
<b>Kurzbeschreibung (englisch)</b>	Free amino acids in aqueous samples are directly analysed by an HPLC system coupled to a fluorescence detector. To remove interfering substances, such as proteins, perchloric acid can be used beforehand. Due to the high polarity of amino acids, automatic online derivatisation using o-phthalaldehyde (OPA) is set up to improve the retention time on reversed phase columns. With this method 23 amino acids can be detected. For the analysis of proline and hydroxyproline another derivatisation reagent will be used.
<b>DOI</b>	10.15480/336.2200