

Determinación de Aminoácidos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

DELIA R. GUTIERREZ

*Departamento de Desarrollo, Roux Ocefa, S.A.,
Medina 138, (1407) Buenos Aires, Argentina*

RESUMEN. Se detalla el procedimiento utilizado al aplicar el método de Larsen y West¹ a la determinación de aminoácidos en soluciones parenterales de gran volumen. El método consiste en la derivatización de los aminoácidos con O-ftalaldehído y posterior cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de los productos de reacción. Se utiliza como fase estacionaria una columna de C-18 y como fase móvil un gradiente de acetonitrilo, buffer fosfato de pH 7,2 (a temperatura ambiente), con detector fluorométrico. El análisis se completa en 52 minutos.

SUMMARY. "Aminoacids Determination by HPLC". The method of Larsen and West¹ has been applied to the quantitation of aminoacids in large volumen parenteral solutions. It consists in the derivatization of the aminoacids with orthophthalaldehyde (OPA) plus HPLC of the resulting products. A C 18 column was used as stationary phase and a gradient between acetonitrile and phosphate buffer pH 7.2 as mobile phase. The detection was carried out through a fluorometric device. The run time was 52 minutes.

MATERIAL

Equipo

Cromatógrafo líquido Beckman, con sistema de doble bomba y detector de fluorescencia.

Detector de fluorescencia con lámpara de halógeno, rango espectral de 320-800 nm. Fotomultiplicador con rango entre 200-600 nm. Filtro de excitación: 305-395 nm. Filtro de emisión: 470-650 nm.

Integrador SP 4270.

Columna: Ultrasphere ODS (dp = 5 µm; 4,6 mm ID x 25 cm).

Pre-columna: Ultrasphere ODS (dp = 5 µm; 4,6 mm ID x 4,5 cm).

Número de platos teóricos: (para los aminoácidos mencionados, en las condiciones de trabajo descriptas a continuación):

	His	Arg	Met	Trp	Lis
N/m	51800	93750	90000	596000	328000

Reactivos

Buffer fosfatos. Disolver 3,549 g de fosfato disódico anhidro en 400 ml de agua destilada, ajustar el pH a 7,2 con ácido clorhídrico y llevar a 500 ml con agua destilada. Una dilución al 1/4 constituye el buffer de trabajo.

Buffer borato. Preparar una solución

PALABRAS CLAVE: Cromatografía Líquida de Alta Resolución; Aminoácidos; Soluciones parenterales.

KEY WORDS: HPLC; Aminoacids; Parenteral solutions