

## Hidrolisis

Las muestras se depositan en tubos de borosilicato pirolizados y se llevan a sequedad en una speed vacuum. La hidrólisis se realiza a vacío, con HCl 6 N en fase gaseosa, conteniendo fenol al 1% (p/v), durante 20-24 horas a 110°C. Para calcular las posibles pérdidas se añade una cantidad conocida de norleucina como estándar interno. Tras la hidrólisis, el exceso de HCl se elimina en una speed vacuum. Posteriormente, los hidrolizados se resuspenden en tampón citrato sódico pH 2.2 y se pasan a viales de inyección.

## Limitaciones derivadas de la hidrólisis

- Asparagina y glutamina pierden el grupo amino y se detectan como ácido aspártico y glutámico, respectivamente. Por tanto, la valoración que se obtiene para ácido aspártico incluye el contenido en asparagina, igualmente, la valoración de glutámico corresponde a la suma de glutámico y glutamina.
- Serina y treonina se destruyen parcialmente, alcanzándose pérdidas entre un 5-10% y un 10-15%, respectivamente, tras 24 horas de hidrólisis.
- La metionina puede oxidarse a metionina sulfoxido y metionina sulfona.
- La tirosina puede sufrir halogenación durante la hidrólisis con HCl. La presencia de iones de hierro o cobre, así como el alto contenido en grasa (>5%) pueden reducir la recuperación de tirosina.
- El triptófano y la cisteína se destruyen totalmente por oxidación. La oxidación con ácido per fórmico a ácido cisteico o la reducción seguida de alquilación previa a la hidrólisis son dos alternativas para cuantificar cisteína. El triptófano puede cuantificarse realizando la hidrólisis en presencia de 1-dodecanotiol o ácido metanosulfónico.
- Los enlaces entre aminoácidos alifáticos tales como Val-Val, Ile-Ile, Val-Ile o Ala-Ala son más resistentes a la hidrólisis con ácido y con frecuencia requieren tiempos de hidrólisis mayores.
- Los aminoácidos fosforilados pierden el grupo fosfato.
- Los aminoácidos glicosilados generan subproductos complejos de muy difícil identificación.