

OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIPTÓFANO EN MUESTRAS DE SANGRE HUMANA

Cabanillas, Laura M.; Tantucci, Leonela A.; Orozco, María B.; Zarzur, Jorge
leonelatantucci@fpmlab.org.ar

Fundación para el Progreso de la Medicina - Córdoba, Argentina - www.fpmlab.org.ar

INTRODUCCIÓN

El Triptófano es un aminoácido esencial de la dieta con capacidad terapéutica en el tratamiento de la depresión, anorexia, insomnio, trastornos del comportamiento y migraña crónica. En los últimos años, se estudia su potencial efecto antiinflamatorio en enfermedades inflamatorias intestinales. El desarrollo actual de las técnicas de cromatografía líquida de alta resolución, destinado a la cuantificación y monitoreo de los aminoácidos libres permite precisar las necesidades de suplementación de Triptófano en el paciente.

OBJETIVO

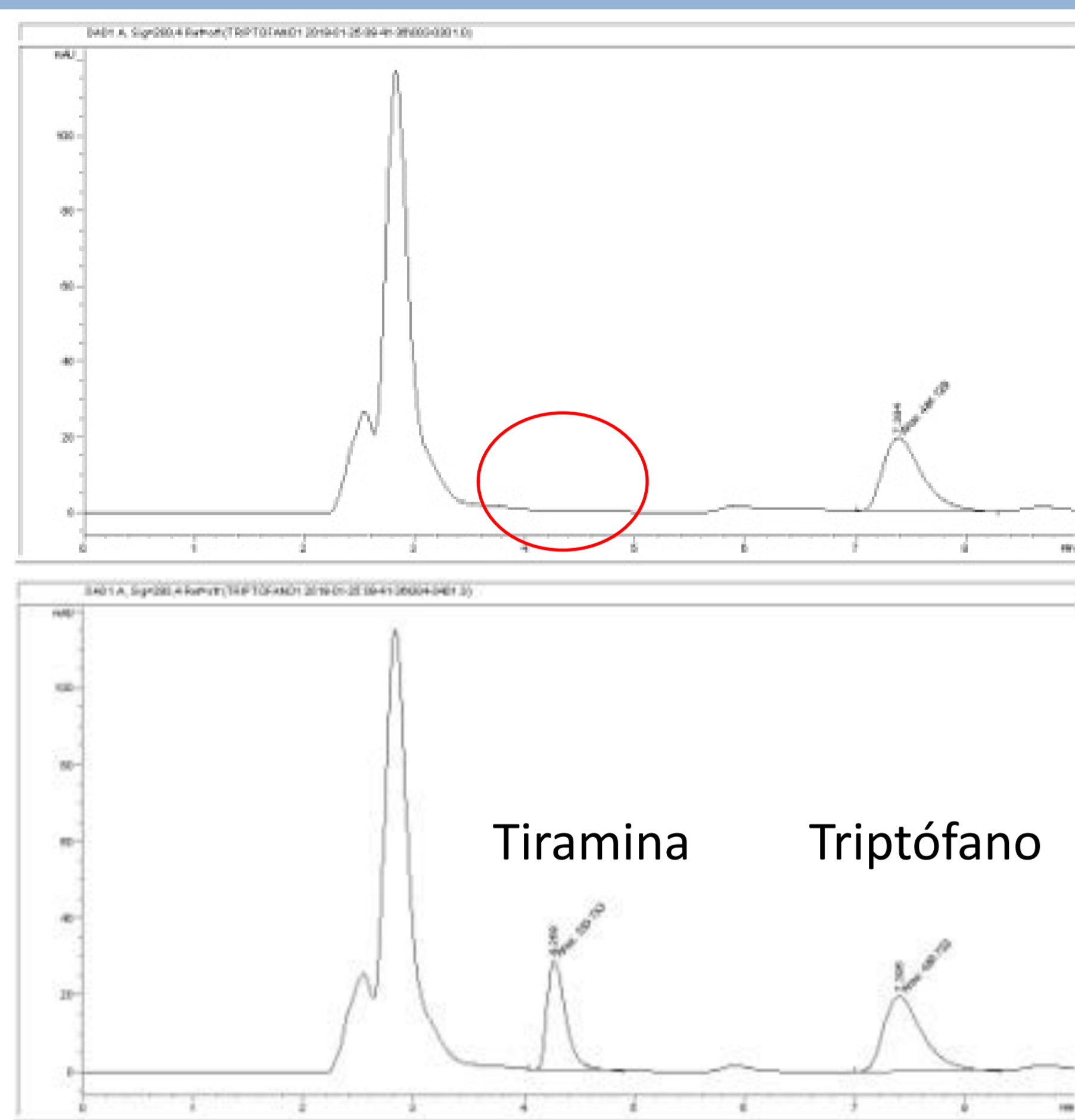
Optimizar y validar un método para identificar y cuantificar Triptófano en muestras de plasma humano con alta sensibilidad y especificidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

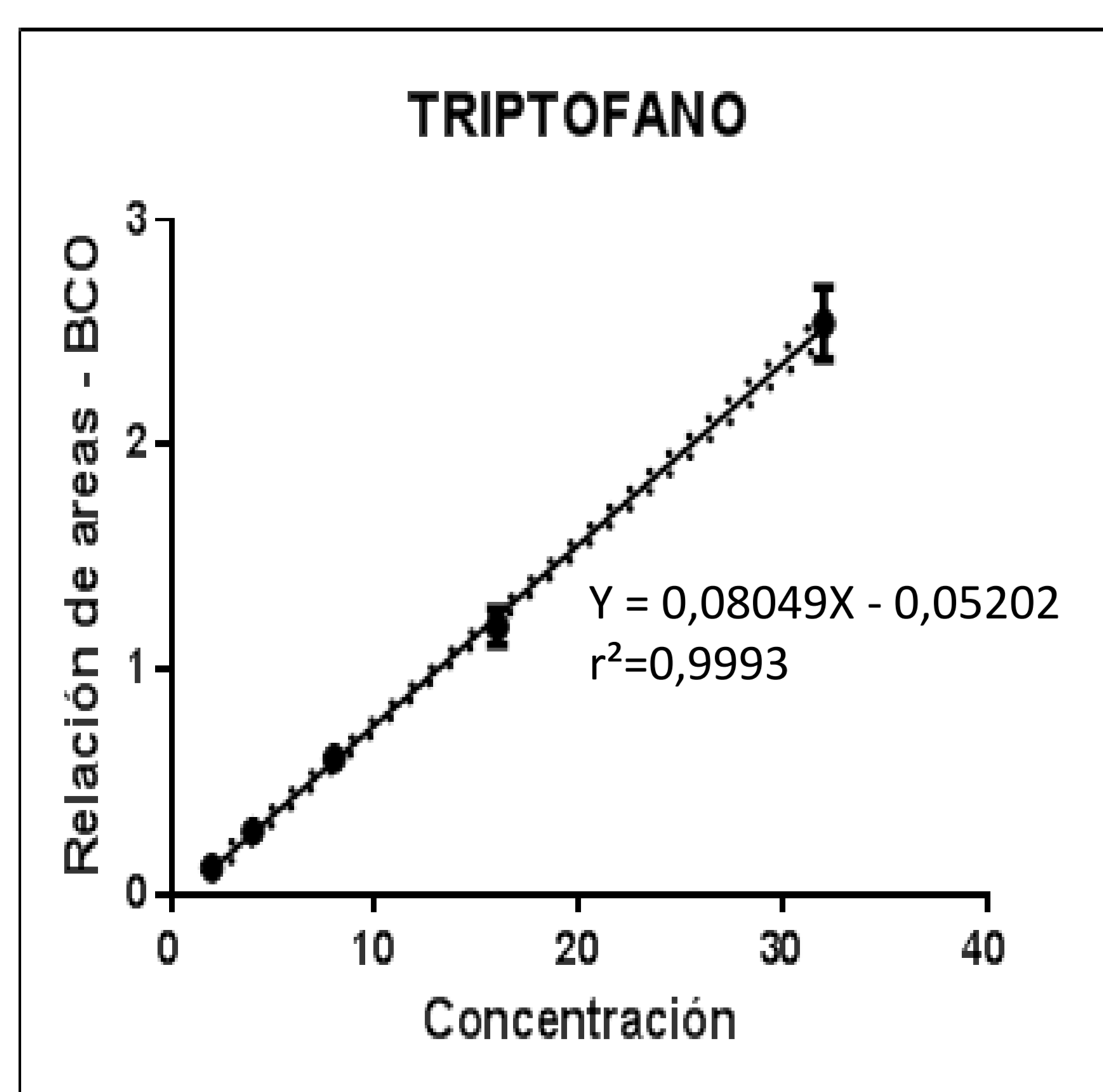
El instrumento utilizado fue un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) Agilent Technologies 1260 Infinity, equipado con inyector automático, detector de rearreglo de diodos ($\lambda=280$ nm) y columna cromatográfica ZORBAX EclipseXDB-C18. Como estándar externo se utilizó Triptófano y como estándar interno Tiramina, ambos reactivos con calidad analítica (PA), en 250 μ l de plasma con EDTA. El agente desproteinizante fue ácido perclórico 35% (PA). Buffer acetato de sodio pH=4.5- Acetonitrilo (92/8) como fase móvil.

RESULTADOS

SELECTIVIDAD



LINEALIDAD



LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

LC (UG/ML)	RELACIÓN S/R	CV (%)
2.0	8.85	10.96

ESTABILIDAD

CONCENTRACIÓN NOMINAL (UG/ML)	RECUPERACIÓN 1° CICLO DESCONGELADO (%)	RECUPERACIÓN 2° CICLO DESCONGELADO (%)	RECUPERACIÓN 3° CICLO DESCONGELADO (%)
3.2	113	101	103
6.0	93	83	85
24.0	112	106	114

PRECISIÓN INTRA-ENSAYO

CONCENTRACIÓN NOMINAL (UG/ML)	CONCENTRACIÓN MEDIDA (UG/ML)	CV (%)
2.0	2.18	10.96
8.0	7.86	1.91
32.0	34.0	1.66

PRECISIÓN INTER-ENSAYO

CONCENTRACIÓN NOMINAL (UG/ML)	CONCENTRACIÓN MEDIDA (UG/ML)	CV (%)	VERACIDAD (ER%)
3.2	3.32	13.91	3.77
6.0	6.16	6.87	2.71
24.0	23.84	4.82	-0.66

RECUPERACIÓN

CONCENTRACIÓN NOMINAL (UG/ML)	RECUPERACIÓN RELATIVA (%)
3,2	100
6	96
24	91

CONCLUSIÓN

Debido a que los parámetros analíticos fueron aceptables, el método demostró ser eficaz para la cuantificación de Triptófano en plasma por HPLC.

