

В идеале внутренний стандарт представляет собой первичную аминокислоту небелкового происхождения, которая является коммерчески доступной и недорогой. Внутренний стандарт должен быть стабильным во время гидролиза, его фактор отклика должен быть постоянным в диапазоне определяемых концентраций целевых аминокислот, кроме того пик внутреннего стандарта на хроматограмме должен обладать уникальным временем удерживания и разрешаться с пиками других аминокислот. На практике в качестве внутреннего стандарта обычно используют норлейцин, нитротирозин и  $\alpha$ -аминомасляную кислоту.

### **Гидролиз белка**

Во избежание ошибочных результатов, стеклянная посуда, используемая для гидролиза белков и пептидов, должна быть очень чистой. Пудра с перчаток и отпечатки пальцев на флаконах для гидролиза могут вызвать загрязнение пробы. Для очистки стеклянных флаконов для гидролиза необходимо прокипятить их в течение 1 ч в 1 М хлористоводородной кислоте или замочить в концентрированной азотной кислоте или в смеси равных объемов концентрированных хлористоводородной и азотной кислот. Очищенные вышеописанным способом флаконы для гидролиза промывают высокочистой водой, затем споласкивают метанолом класса чистоты «для ВЭЖХ», сушат в течение ночи в сушильном шкафу и хранят закрытыми вплоть до использования. Альтернативно для устранения загрязнений может быть использован пиролиз чистой стеклянной посуды при температуре 500 °С в течение 4 ч. Также возможно использование адекватной одноразовой лабораторной посуды.

Кислотный гидролиз является наиболее распространенным способом гидролиза образца белка перед аминокислотным анализом. Метод кислотного гидролиза может способствовать ухудшению воспроизводимости результатов анализа из-за полного или частичного разрушения некоторых аминокислот: триптофан разрушается; серин и треонин частично