

Визуальной оценке, в сравнении со стандартным образцом, подлежат: общая картина элюирования, выражаемая общим числом пиков, их относительной интенсивностью, наличием реперных пиков.

Количественной оценке подлежат: времена удерживания или относительные времена удерживания пиков (обычно реперных), параметры интенсивности пиков (площадь или высота) или их относительные значения. Количественная оценка может проводиться как по сравнению с внешним, так и по сравнению с внутренним стандартом.

Использование внутреннего стандарта при оценке интенсивности пиков позволяет исключить влияние возможного не полного гидролиза пептида, воспроизводимости этапов пробоподготовки (выделения и очистки белка). Выбор внутреннего стандарта должен быть обоснован в ходе валидации.

Как альтернативный вариант для испытуемого образца может быть рассчитан процент площади или высоты пика каждого пептидного фрагмента относительно суммы площади или высоты всех пиков или относительно одного пика, выбранного в качестве реперного. Затем полученный процент сравнивается со значением аналогичного параметра соответствующего пика стандартного образца.

Возможность автогидролиза трипсина контролируется при помощи создания пептидной карты плацебо, получаемой при обработке трипсином раствора без определяемого пептида.

Идентификация пептида и соблюдение специфичности методики, кроме сравнения с пептидной картой стандартного образца, подтверждаются и дополняются анализом хроматографического профиля и параметров пиков смеси 1:1 (об/об) продуктов гидролиза испытуемого образца и стандартного образца.

Можно произвести множественное сравнение времен удерживания и площадей или высоты пиков для выбранной группы соответствующих пиков, которые однозначно идентифицируются на пептидной карте.