

получения не менее чем пяти стандартных растворов, имеющих концентрации белка, равномерно распределенные в интервале между 5 мкг/мл и 100 мкг/мл.

*Испытуемый раствор.* Готовят раствор испытуемого лекарственного средства в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье, с концентрацией белка, находящейся в пределах интервала концентраций калибровочного графика.

*Контрольный раствор.* Используют буферный раствор, применяемый для приготовления стандартных и испытуемого растворов.

**Метод А (без предварительного осаждения белка).** К 1,0 мл каждого из стандартных растворов, испытуемого раствора и к 1,0 мл контрольного раствора, прибавляют по 5,0 мл реактива В. Содержимое пробирок перемешивают и оставляют на 10 – 30 мин при комнатной температуре. Затем в каждую пробирку прибавляют 0,5 мл реактива Фолина, разбавленного перед употреблением водой в 2 раза, быстро и тщательно перемешивают и оставляют на 30 мин при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартных растворов на спектрофотометре при длине волны 750 нм (или указанной в фармакопейной статье), используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения. Окраска остается стабильной в течение 2 часов. Допускается использование коммерческого реактива Фолина-Чокалтеу.

Зависимость оптической плотности от концентрации белка носит нелинейный характер, тем не менее, если интервал концентраций, используемых для построения калибровочного графика, небольшой, то она приближается к линейной. Строят зависимости оптических плотностей стандартных растворов от концентраций белка и используют линейную регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и оптической плотности испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.