

длине волны 280 нм, используя тот же буферный раствор в качестве раствора сравнения.

Для получения достоверных и точных результатов значения оптической плотности растворов должны удовлетворять требованиям линейности в интервале определяемых концентраций белка.

Для высокоочищенных белков концентрацию белка в растворе вычисляют с использованием удельного показателя поглощения.

Рассеяние света. Точность определения содержания белка в ультрафиолетовой области снижается, если белки в растворе существуют в виде частиц, сравнимых по размеру с длиной волны измеряемого света (250 – 300 нм). Рассеяние светового потока приводит к увеличению оптической плотности испытуемого раствора. При расчете оптической плотности испытуемого раствора при длине волны 280 нм, обусловленной рассеянием света, определение проводят при длинах волн 320 нм, 325 нм, 330 нм, 335 нм, 340 нм и 350 нм. Строят график зависимости десятичного логарифма (\lg) оптической плотности от \lg соответствующей длины волны. Экстраполируют кривую методом линейной регрессии для определения логарифма оптической плотности при длине волны 280 нм. Антилогарифм этого значения соответствует оптической плотности за счет рассеяния света. Для расчета истинного содержания белка в испытуемом растворе оптическую плотность раствора, полученную при 280 нм, корректируют, вычитая оптическую плотность, относящуюся к рассеянному свету.

Снизить эффект рассеянного света в опалесцирующих растворах можно фильтрованием через фильтр с размером пор 0,2 мкм, не адсорбирующим белок, или центрифугированием. Условия фильтрования и центрифугирования указывают в фармакопейной статье.

Расчеты. Концентрацию белка в испытуемом растворе (С) в мг/мл вычисляют по формуле:

$$C = C_0 \cdot A/A_0, \quad \text{где}$$

C_0 – концентрация белка в растворе стандартного образца, в мг/мл;