

A и A_0 – скорректированные значения оптической плотности испытуемого раствора и раствора стандартного образца соответственно.

Метод 2 (Метод Лоури, колориметрический)

Метод основан на реакции белков с солями меди (II) в щелочном растворе и восстановлении фосфорномолибдено-вольфрамового реактива (реактив Фолина) с образованием окрашенных продуктов, интенсивность окраски которых определяют по оптической плотности при длине волны 750 нм. Реактив Фолина взаимодействует с остатками ароматических аминокислот белка, главным образом тирозина, а также триптофана и фенилаланина и, в меньшей степени, цистеина. Развитие окраски достигает максимума через 20 – 30 мин при комнатной температуре, в дальнейшем идет уменьшение ее интенсивности. Степень окрашивания зависит от природы белка. Поскольку различные виды белков могут давать цветные реакции различной интенсивности, испытуемый белок должен соответствовать стандартному образцу.

Определению мешают некоторые соли, тиоловые соединения, углеводы, липиды, неионные детергенты, органические растворители, комплексоны и некоторые другие соединения. Большинство мешающих веществ дает слабое окрашивание, однако применение некоторых детергентов приводит к значительному увеличению окраски. Высокая концентрация соли может являться причиной образования осадка. Для уменьшения влияния веществ, мешающих определению, проводят дополнительное разведение раствора, обеспечивающее концентрацию испытуемого белка на уровне, достаточном для проведения точных измерений, или осаждение белков растворами натрия дезоксихолата и трихлоруксусной кислоты.

Стандартные растворы. Растворяют соответствующий стандартный образец белка в буферном растворе, указанном в фармакопейной статье. Части полученного раствора разводят в том же буферном растворе для