

*Методика.* Смешивают 10 мкл испытуемого раствора, каждого из стандартных растворов и контрольного раствора с 0,1 мл фталальдегидного реактива и выдерживают при комнатной температуре в течении 15 мин. Прибавляют 3 мл 0,5 М раствора натрия гидроксида и перемешивают. Определяют интенсивность флуоресценции испытуемого раствора и каждого из стандартных растворов при длине волны возбуждения 340 нм и длине волны испускания между 440 нм и 455 нм, используя контрольный раствор в качестве раствора сравнения. Измеряют интенсивность флуоресценции указанных растворов только один раз, поскольку излучение снижает интенсивность флуоресценции.

Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации белка носит линейный характер. Строят график зависимости интенсивностей флуоресценции стандартных растворов от концентраций белка и используют линейную регрессию для построения калибровочной кривой. На основании калибровочной кривой и интенсивности флуоресценции испытуемого раствора определяют концентрацию белка в испытуемом растворе.

Калибровочный график строят каждый раз при приготовлении новых реактивов или использовании другого спектрофлуориметра, но не реже 1 раза в 3 мес.

#### **Примечания:**

*Приготовление боратного буферного раствора.* В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 61,83 г борной кислоты и растворяют в воде и доводят рН до значения 10,4 при помощи раствора калия гидроксида. Объем раствора доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

*Приготовление исходного раствора фталальдегида.* 1,20 г фталальдегида растворяют в 1,5 мл метанола, прибавляют 100 мл боратного буферного раствора и перемешивают. Прибавляют 0,6 мл 30 % раствора макрогол 23 лаурилового эфира (300 г/л) и перемешивают.

Хранят при комнатной температуре и используют в течение 3 недель.

*Приготовление фталальдегидного реактива.* К 5 мл исходного раствора фталальдегида прибавляют 15 мкл 2-меркаптоэтанола. Раствор следует готовить не менее чем за 30 мин перед использованием.

Используют в течение 24 часов.