

2 мл испытуемого раствора центрифугируют при 3500 об/мин при температуре 4 – 5 °С в течение 30 мин. Надосадочную жидкость удаляют, осадок промывают 2 мл воды очищенной и центрифугируют в тех же условиях. Затем надосадочную жидкость вновь удаляют.

К осадку прибавляют 0,4 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, перемешивают, выдерживают при комнатной температуре в течение 30 мин, затем прибавляют 2 мл реактива В и вновь перемешивают. Через 10 мин прибавляют 0,2 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива. Смесь перемешивают и центрифугируют при температуре 4 – 5 °С при 3500 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость сливают в пробирку и через 10 мин измеряют оптическую плотность по методике, указанной в ОФС «Определение белка» (метод Лоури, метод А).

В качестве контрольного раствора используют 2 мл воды очищенной или буферного раствора, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации, прибавляют 0,4 мл 0,1М раствора натрия гидроксида, 2 мл реактива В и 0,2 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива.

Содержание белка рассчитывают по калибровочному графику, как указано в методе I.

Построение калибровочного графика. К 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 мл, (концентрация белка: 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 мг/мл соответственно) добавляют воду очищенную до объема 0,4 мл перемешивают, добавляют 2,0 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива и вновь перемешивают. Далее определение проводят по методике, указанной в ОФС «Определение белка» (Метод Лоури, Метод А).

Примечания

Испытуемый раствор. 2 мл испытуемого раствора с содержанием белка от 0,01 до 0,02 мг/мл.

Приготовление стандартного раствора указано в методе I. При определении белка в сорбированных препаратах в фармакопейной