



2004



## Способы количественного определения белка

1. *Азотометрический метод*
2. *Гравиметрический*
3. *Рефрактометрический*
4. *Метод определения по плотности (удельному весу)*
5. *Спектрофотометрический*
6. *Колориметрические методы*
7. *Турбидиметрический*
8. *Методы, основанные на специфической сорбции некоторых красителей поверхностью белковых молекул.*
9. *Другие: поляриметрический, "сухая химия" на полосках (по "протеиновой ошибке" индикатора)*



# Методы определения концентрации белка сыворотки крови, мочи

## 1. Спектрофотометрический (?)

(оценка приблизительного количества белка; используется для определения концентрации индивидуального белка)

Формула **Калькара**:

$$C_{г/л} = 1,55 A_{280} - 0,76 A_{260}$$

Приблизительно: 1ед. оптической плотности - 1мг/мл (СФ,  $\lambda = 280\text{нм}$ ,  $l = 1\text{см}$ )  
Чувствительность = 100мкг/мл



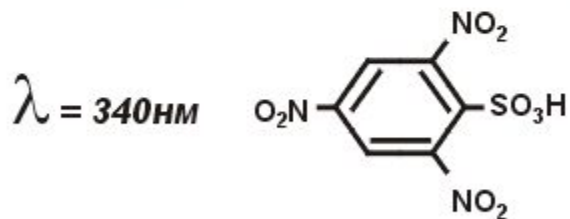
# Методы определения концентрации белка сыворотки *крови, мочи*

## 2. Колориметрические

2.1. **Биуретовый метод** (чувствительность - 1 мг/мл)

2.2. **Метод Лоури** (чувствительность - 10 мкг/мл)

2.3. **Взаимодействие аминогрупп с различными реагентами**  
(например с *тринитробензолсульфокислотой*)





## Методы определения концентрации белка сыворотки крови, мочи

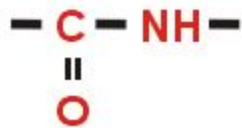
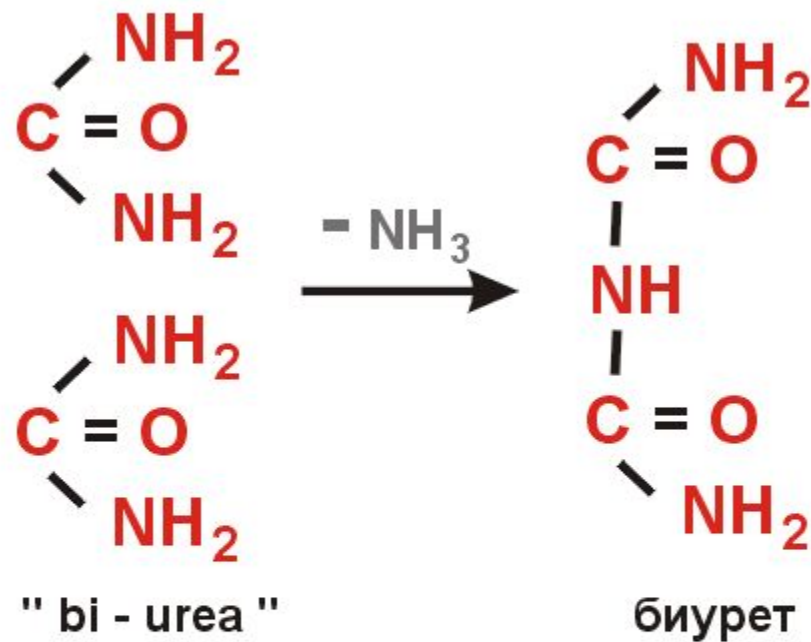
**3. Методы, основанные на специфической сорбции некоторых красителей поверхностью белковых молекул**

**Амидо черный 10В** (*кислотный черный, амидо шварц*)

**Кумасси бриллиантовый синий R-250 или G-250**  
(*Coomassie brilliant blue*)

**Понсо S** (*кислотный красный, Ponceau S*)

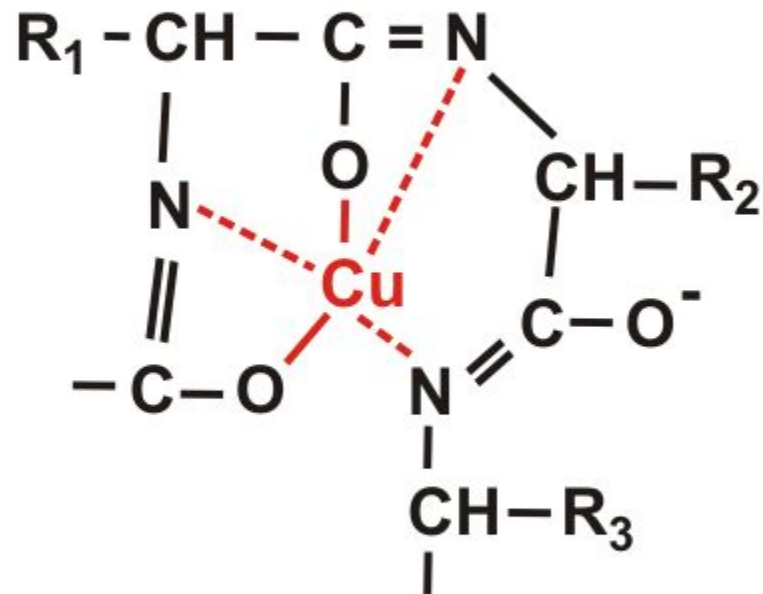
**Бромфеноловый синий (БФС, тетрабромфенолсульфофталеин)**

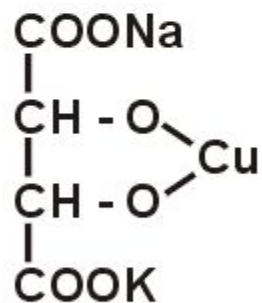
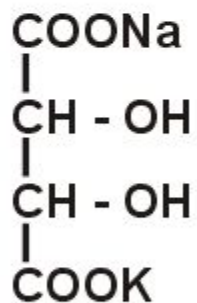






## Структура комплекса *Cu* с белком





Сегнетова соль (Na-K-соль виннокаменной кислоты)





## Ход анализа

Порядок действий, V(мл); t(мин)	Проба	Контроль
Биуретовый реактив	5,0	5,0
Сыворотка	0,1	-
NaCl (9г/л)	-	0,1

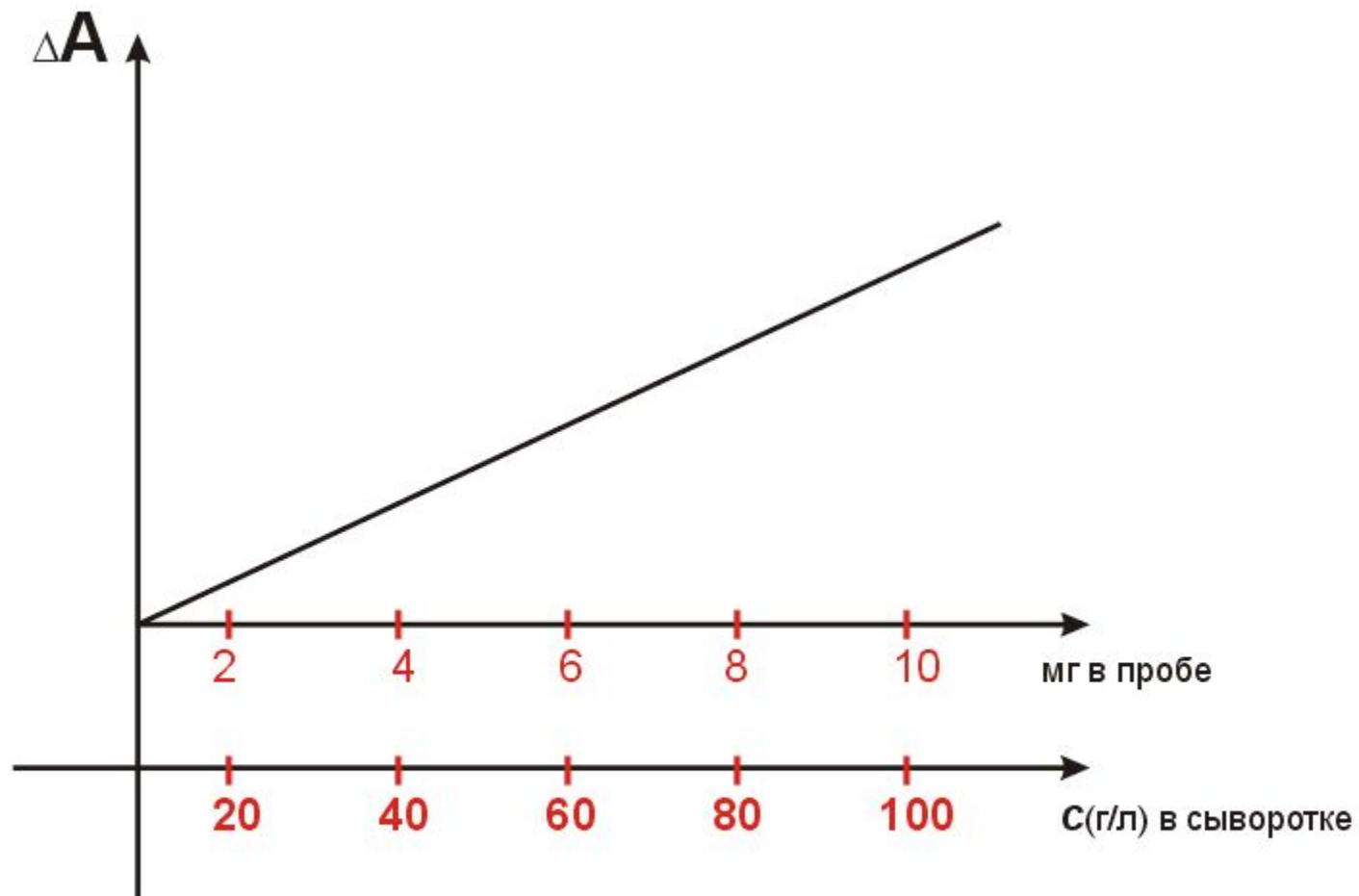
Приготовление станд. р-ров альбумина				Содержание белка в пробе (в 0,1мл ст. р-ра)(мг)	Конц. белка в сыворотке (г/л)
№	Объем р-ра NaCl (мл)	Объем р-ра А 100г/л (мл)	Конц. белка в станд. р-ре (г/л)		
1.	0,8	0,2	20г/л	2мг	20
2.	0,6	0,4	40г/л	4мг	40
3.	0,4	0,6	60г/л	6мг	60
4.	0,2	0,8	80г/л	8мг	80
5.	-	Исп. исход. р-р без разведения	100г/л	10мг	100

I. а) 100г А - 1000мл  
 $x_1$ г А - 0,2мл  
 $x_1 = 0,02г$

II. 20г - 1000мл ст. р-ра №1  
 $x_3$  - 0,1мл  
 $x_3 = 0,002г = 2мг$

III. Если  $A_{ст.} = A_{пр.}$   
2мг - 0,1мл сыворотки  
 $x_4$  - 1000мл сыворотки  
 $x_4 = 20000мг/л = 20г/л$

б) 0,02г - 1мл ст. р-ра № 1  
 $x_2$ г - 1000мл ст. р-ра № 1  
 $x_2 = 20г/л$





2004