

В центрифужную пробирку отбирают 1 или 2 мл испытуемого раствора, тщательно перемешанного на вихревой мешалке, центрифугируют при температуре 4-5 °С при 3500 об/мин в течение 30 мин. Надосадочную жидкость удаляют, осадок промывают 2 мл воды очищенной и вновь центрифугируют в тех же условиях, после чего надосадочную жидкость вновь сливают.

К осадку прибавляют 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, перемешивают, выдерживают 30 мин при комнатной температуре, затем прибавляют 5 мл реактива В и снова перемешивают. Через 10 мин прибавляют 0,5 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 1 или 2 мл воды очищенной или буферного раствора, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации, прибавляют 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, 5 мл реактива В и 0,5 мл фосфорномолибденово-вольфрамового реактива.

Содержания белка рассчитывают по калибровочному графику, как указано в методе I. Калибровочный график воспроизводят при каждом определении.

Примечания

Испытуемый раствор. 1 мл испытуемого раствора, содержащего от 0,04 до 0,16 мг/мл белка или 2 мл испытуемого раствора, содержащего от 0,02 мг/мл до 0,04 мг/мл белка.

Приготовление стандартного раствора – указано в методе I.

Метод IV (для сорбированных препаратов с содержанием белка 0,01 - 0,02 мг/мл)