

# 盐城市蛋白质含量检测 食品中蛋白质含量检测

产品名称	盐城市蛋白质含量检测 食品中蛋白质含量检测
公司名称	广分检测技术（苏州）有限公司
价格	.00/个
规格参数	
公司地址	江苏省昆山市陆家镇星圃路12号智汇新城B区7栋
联系电话	0512-65587132 18662248592

## 产品详情

### Bradford 方法

1976年由Bradford建立的考马斯亮兰法(Bradford法),是根据蛋白质与染料相结合的原理设计的。这种蛋白质测定法具有超过其他几种方法的突出优点,因而正在得到广泛的应用。这一方法是目前灵敏度\*高的蛋白质测定法。

#### 一、原理：

考马斯亮兰G-250染料,在酸性溶液中与蛋白质结合,使染料的吸收峰的位置( $I_{max}$ ),由465nm变为595nm,溶液的颜色也由棕黑色变为兰色。经研究认为,染料主要是与蛋白质中的碱性氨基酸(特别是精氨酸)和芳香族氨基酸残基相结合,在595nm下测定的吸光度值 $A_{595}$ ,与蛋白质浓度成正比。

Bradford法的突出优点是:

(1)灵敏度高,据估计比Lowry法约高四倍,其\*低蛋白质检测量可达1mg。这是因为蛋白质与染料结合后产生的颜色变化很大,蛋白质-染料复合物有更高的消光系数,因而光吸收值随蛋白质浓度的变化比Lowry法要大的多。

(2)测定快速、简便,只需加一种试剂。完成一个样品的测定,只需要5分钟左右。由于染料与蛋白质结合的过程,大约只要2分钟即可完成,其颜色可以在1小时内保持稳定,且在5分钟至20分钟之间,颜色的稳定性。因而完全不用像Lowry法那样费时和严格地控制时间。

(3)干扰物质少。如干扰Lowry法的 $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$ 离子、Tris缓冲液、糖和蔗糖、甘油、、EDTA等均不干扰此测定法。

此法的缺点是:

(1)由于各种蛋白质中的精氨酸和芳香族氨基酸的含量不同,因此Bradford法用于不同蛋白质测定时有较大的偏差,在制作标准曲线时通常选用球蛋白为标准蛋白质,以减少这方面的偏差。

(2)仍有一些物质干扰此法的测定，主要的干扰物质有:去污剂、Triton X-100、十二烷基硫酸钠(SDS)和0.1N的NaOH。(如同0.1N的酸干扰Lowary法一样)。

(3)标准曲线也有轻微的非线性，因而不能用Beer定律进行计算，而只能用标准曲线来测定未知蛋白质的浓度。

二、试剂与器材1.试剂:(1)标准蛋白质溶液，用球蛋白或牛血清清蛋白(BSA)，配制成1.0mg/ml和0.1mg/ml的标准蛋白质溶液。(2)考马斯亮兰G-250染料试剂:称100mg考马斯亮兰G-250，溶于50ml 95%的乙醇后，再加入120ml 85%的磷酸，用水稀释至1升。2.器材:(1)可见分光光度计 (2)旋涡混合器 (3)试管16支

### 三、操作方法

#### 1.标准方法

(1)取16支试管，1支作空白，3支留作未知样品，其余试管分为两组按表中顺序，分别加入样品、水和试剂，即用1.0mg/ml的标准蛋白质溶液给各试管分别加入:0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1ml，然后用无离子水补充到0.1ml。\*后各试管中分别加入5.0ml考马斯亮兰G-250试剂，每加完一管，立即在旋涡混合器上混合(注意不要太剧烈，以免产生大量气泡而难于消除)。未知样品的加样量见下表中的第8、9、10管。

(2)加完试剂2~5分钟后，即可开始用比色皿，在分光光度计上测定各样品在595nm处的光吸收值A<sub>595</sub>，空白对照为第1号试管，即0.1mlH<sub>2</sub>O加5.0mlG-250试剂。注意:不可使用石英比色皿(因不易洗去染色)，可用塑料或玻璃比色皿，使用后立即用少量95%的乙醇荡洗，以洗去染色。塑料比色皿决不可用乙醇或丙酮长时间浸泡。

(3)用标准蛋白质量(mg)为横坐标，用吸光度值A<sub>595</sub>为纵坐标，作图，即得到一条标准曲线。由此标准曲线，根据测出的未知样品的A<sub>595</sub>值，即可查出未知样品的蛋白质含量。0.5mg牛血清蛋白/ml溶液的A<sub>595</sub>约为0.50。2.微量法当样品中蛋白质浓度较稀时(10-100mg/ml)，可将取样量(包括补加的水)加大到0.5ml或1.0ml，空白对照则分别为0.5ml或1.0ml H<sub>2</sub>O，考马斯亮蓝G-250试剂仍加5.0ml，同时作相应的标准曲线，测定595nm的光吸收值。0.05mg牛血清蛋白/ml溶液的A<sub>595</sub>约为0.29。