

Folin -酚试剂的配制

货号: F8060

规格: 50mL/100mL

保存: 室温避光保存, 有效期 3 年; 开封后建议 4℃ 保存。

产品简介:

1、Folin-酚试剂甲:

将 1g Na_2CO_3 溶于 50mL 0.2mol/L NaOH 中, 再把 0.5g(硫酸铜) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶于 100mL 1%的 酒石酸钾钠(或酒石酸钠)溶液, 然后将前者 50mL 与后者 1mL 混合, 现用现配, 此试剂只能使用一天, 过期失效。

2、Folin-酚试剂乙:

本试剂的浓度为 1mol/L, 此为 Folin-酚试剂应用液。Folin-酚试剂平时应密封贮存于 4℃ 冰箱中避光保存。

Folin -酚法测定原理:

在碱性条件下, 蛋白质与铜作用生成蛋白质—铜络合物。此络合物将试剂磷钼酸—磷钨酸(Folin 试剂)还原, 混合物深蓝色(磷钼蓝和磷钨蓝混合物), 颜色深浅与蛋白质含量成正比。此方法操作简便, 灵敏度比双缩脲法高 100 倍, 定量范围为 5~100 μg 蛋白质。

操作方法:

1、标准曲线的制作:

取 14 支试管分成两组, 分别加入 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1mL 标准蛋白质溶液(250 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 用水补足到 1mL, 加入 5mL 试剂甲, 混匀, 于 20-25℃ 放置 10 分钟, 再加入 0.5mL 试剂乙, 立即摇匀, 在 20-25℃ 保温 30 分钟, 然后于 500nm 处比色。测定光密度值, 取两组测定的平均值, 以蛋白质浓度为横坐标, 光密度值为纵坐标, 绘制标准曲线值为定量的依据。

2、样品测定:

取 1mL 样品溶液 (约合 20-250 μg /多肽或蛋白质) 加入 5mL 试剂甲混匀, 于 20-25℃ 放置 10 分钟, 再加 0.5mL 试剂乙 (Folin-酚), 立即摇匀, 在 20-25℃ 保温 30 分钟, 然后于 500nm 处比色, 以 1mL 水代替样品作空白对照。测定后, 可以在标准曲线中查出未知样品的浓度。若用 0.5cm 光程的比色杯进行比色, 可按下面方法进行操作: 取 0.2mL 样品溶液 (约合 5-100 μg 多肽或蛋白质) 加入 1mL 试剂甲 (可选用 0.3-0.5cm 直径的小试管) 混匀, 10 分钟以后, 再加入 0.1mL 试剂乙, 立即混匀, 30 分钟后比色。一般来说, 若多肽或蛋白质的浓度在 2-25 μg , 测波长 755nm, 而 25 μg 以上则采用 500nm 比色为宜。

注意事项:

- 1、Folln 试剂显色反应由酪氨酸、色氨酸、半胱氨酸引起，因此样品中若含有酚类、柠檬酸和巯基化合物，均有干扰作用。
- 2、福林酚仅在酸性条件下稳定，所以加入试剂乙后要立即混匀，在试剂乙被破坏之前完成反应，否则显色程度减弱。
- 3、用该方法测定蛋白浓度会受到蛋白质的特异性影响，即不同蛋白质因酪氨酸、色氨酸含量的不同而使显色强度稍有不同，标准曲线也不是严格的直线形式。

相关产品：

F8010 福林酚

PC0020 BCA 蛋白浓度测定试剂盒

PC0010 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒

PC0030 Lowry 法蛋白浓度测定试剂盒