Folin—酚试剂的配制

1.Folin—酚试剂甲

溶液I： 2g无水碳酸钠和20mg酒石酸钠溶于100ml 0.2mol/l氢氧化钠中（已配制成5×，用时稀释5倍，使用完需另配）。

溶液Ⅱ： 0.5g五水硫酸铜溶于100ml水溶液。

将稀释后的溶液I与溶液Ⅱ，以50：1的比例混合，混合后即为Folin—酚试剂甲，此试剂只能用一天，过期失效。

2.Folin—酚试剂乙

原液浓度为2moL/L使用前需稀释一倍，用多少稀释多少。使其最后浓度为1moL/L。此为Folin—酚试剂乙应用液。Folin—酚试剂乙原液平时应密封贮存于4℃冰箱中避光保存。

3.操作方法

标准曲线的制作

取14支试管分成两组，按下表顺序加入试剂，混匀，于室温放置10分钟。再加入0.5毫升试剂乙，立即摇匀，在室温放置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，以蛋白质浓度为横座标，光密度值为纵座标，绘制标准曲线为定量的依据。

试剂/管号	0	1	2	3	4	5	6
BSA/ml(250ug/ml)	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水/ml	1.0	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	0
试剂甲/ml	5	5	5	5	5	5	5
试剂乙/ml	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

样品测定：

（1）取1毫升样品溶液（约含20-250微克多肽或蛋白质）加入5毫升试剂甲混匀，于室温放置10分钟。

（2）加入0.5毫升试剂乙（folin—酚），立即摇匀，于室温保温30分钟；然后500nm（根据使用情况）处比色，以1毫升水代替样品作空白对照。测定后，可以从标准曲线中查出未知样品浓度。

若用0.5厘米光程的比色杯进行比色，可按下面方法进行操作：取0.2毫升样品溶液（约含5-100微克多肽或蛋白质），加入1毫升试剂甲（可选用0.3-0.5厘米直径的小试管）混匀，10分钟以后，再加入0.1毫升试剂乙，立即混匀，30分钟后比色，一般来说，若多肽或蛋白质浓度在2-25微克，则采用波长755nm，而25微克以上则采用500nm比色为宜（波长选择依使用情况）。