

1.10307.0500

Protein (Biuret Method)

Cat. No. 1.10307.0500

Protein (Biuret Method)
Reagent solution for approx. 250 determinations

Measuring ranges

Range 1: 1 - 10 g/l

Range 2: 0.5 - 5.0 g/l

Method of determination

Proteins form a blue-violet complex in alkaline copper sulfate solution containing tartrate (Biuret reagent). The absorbance of the solution is normally measured at 546 nm. The protein concentration of the sample can be determined by calibrating with a protein standard solution.¹⁻³

Packaging, storage, and stability

Each bottle contains 500 ml Biuret solution and is sufficient for about 250 determinations. The solution is stable for at least 12 months at room temperature. It is stable for at least 2 years if kept in a refrigerator at + 2 to + 8 °C.

Sample preparation

The sample solution should be clear and show no signs of coloring. **Turbid solutions** should be centrifuged or filtered. In **colored samples** and those containing **low levels of protein** (< 0.5 g/l), the protein should be precipitated from a defined volume with trichloroacetic acid solution and then redissolved in a (smaller) volume of redistilled water.

Preparation of the trichloroacetic acid (TCA solution): Carefully dissolve 5 g trichloroacetic acid (Cat. No. 1.00807) in 10 ml redistilled water (50% (w/v)).

Procedure: To precipitate, add 0.2 ml 50% (w/v) TCA solution per 1 ml of sample solution, mix and centrifuge. Discard the supernatant and dissolve the precipitate in a defined, smaller volume of redistilled water. This is now the sample solution.

Suspected quantity of protein in the sample (g/l)	
< 0.5	TCA precipitation
0.5 - 5.0	Measuring range 2
1 - 10	Measuring range 1
> 10	Dilution

Preparation of standard solutions

Calibration can be carried out with practically any homogeneous and pure protein. Bovine serum albumin (BSA) is frequently used as a reference substance. To prepare a standard solution, dissolve exactly 1 g BSA (Cat. No. 1.12018) in 100 ml redistilled water in a volumetric flask. This stock solution (10 g/l) can then be diluted as required:

Measuring range 1 (1 - 10 g/l)

Standard solutions (g/l)	1	2	4	6	8	10
Protein stock solution (ml) (10 g/l BSA)	1	2	4	6	8	10
Redistilled water (ml)	9	8	6	4	2	-

Measuring range 2 (0.5 - 5.0 g/l)

Standard solutions (g/l)	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
Protein stock solution (ml) (10 g/l BSA)	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
Redistilled water (ml)	9.5	9.0	8.0	7.0	6.0	5.0

The standard solutions can be aliquotted and stored for approx. 6 months at -20 °C.

Carrying out the determination

Measurement should be carried out using a disposable plastic cell (path length 1 cm) at 546 nm. Zero adjustment of the photometer can be carried out against air or water.

Pipetting scheme Measuring range 1 (1 - 10 g/l)	Sample or standard	Reagent blank
Sample solution / standard solution	0.5 ml	-
Redistilled water	-	0.5 ml
Biuret reagent solution	2.0 ml	2.0 ml

Mix thoroughly, incubate for 30 minutes at room temperature and measure absorbance at 546 nm.

Pipetting scheme Measuring range 2 (0.5 - 5.0 g/l)	Sample or standard	Reagent blank
Sample solution / standard solution	1.0 ml	-
Redistilled water	-	1.0 ml
Biuret reagent solution	2.0 ml	2.0 ml

Mix thoroughly, incubate for 30 minutes at room temperature and measure absorbance at 546 nm.

Evaluation

Calculate the differences in absorbance $\Delta E = E_{\text{Standard}} - E_{\text{Blank}}$ and $\Delta E = E_{\text{Sample}} - E_{\text{Blank}}$.

To compile the calibration curve, plot the ΔE values against the corresponding protein standards; the protein concentration of unknown samples can then be determined graphically from the calibration curve or they can be calculated using the slopes of the curves. (The slopes - or "Biuret factors" - of several important proteins have been summarized in tabular form⁴.)

NB: If the sample has been diluted prior to measurement, the result must be multiplied by the appropriate dilution factor *f*.

Interference

Although few substances interfere with the Biuret method, these happen to be commonly used substances in protein chemistry: e. g. ammonium sulfate, Tris, glycerol and saccharose⁵. If these substances are being used, it is advisable to carry out a TCA precipitation prior to measurement. Lipids can also interfere by causing turbidity; adding up to 3% sodium deoxycholate can help to prevent this.

Ordering information: Reagents

Cat. No.	Designation	Packaging size
1.10307	Protein (Biuret Method) Reagent solution for approx. 250 determinations	500 ml
1.00807	Trichloroacetic acid for analysis EMSURE [®] ACS	100 g, 250 g
1.12018	Albumin, fraction V	25 g, 100 g

There is also another ready-to-use reagent solution for protein determination:

Cat. No.	Designation	Packaging size
1.10306	Protein (Bradford Method) Reagent solution for approx. 200 determinations	500 ml

Literature references

1. Kresze, G.-B.; in: Meth. Enz. Anal. (Bergmeyer, H. U., u. GraBl, M., eds.), Vol. **2**, 86-88 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim (1983)
2. Dumas, B. T., et al.; Clin. Chem. **27**, 1642-1650 und 1651-1654 (1981)
3. Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: L 06.00-23 (Mai 1986), L 07.00 36 (Mai 1986) und L 08.00-28 (Mai 1986)
4. Beisenherz, G., et al.; Z. Naturf. **8b**, 555-577 (1953)
5. Thorne, C. J. R.; in: Techniques in Protein and Enzyme Biochemistry (Kornberg, H. L., et al. eds.), **Pt. 1, B 104**, 1-18, Elsevier-North Holland, Amsterdam (1978)

MilliporeSigma is the U.S. and Canada Life Science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. MilliporeSigma, Supelco, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.

1.10307.0500

Protéines (selon la méthode de Biuret)

Art. 1.10307.0500

Protéines (selon la méthode de Biuret)
Solution réactionnelle pour env. 250 dosages

Domaines de mesure

Domaine de mesure 1 : 1 - 10 g/l

Domaine de mesure 2 : 0,5 - 5,0 g/l

Méthode de dosage

Dans une solution alcaline de sulfate de cuivre et contenant du tartrate (réactif de Biuret), les protéines forment un complexe coloré bleu-violet. L'extinction des solutions à mesurer est mesurée normalement 546 nm. La teneur en protéines des échantillons est dosée par calibration à l'aide de solutions protéiniques standard.¹⁻³

Présentation, conservation et stabilité

Un flacon contient 500 ml de solution du Biuret et suffit à 250 dosages.

La solution est utilisable au moins 12 mois à température ambiante. Conservée au réfrigérateur entre + 2 et + 8 °C, elle est utilisable pendant au moins 2 ans.

Préparation d'échantillon

Les échantillons doivent être limpides et ne pas avoir de couleur propre. Centrifuger ou filtrer les **échantillons troubles**. Pour les **échantillons colorés** et les **échantillons ayant une teneur en protéines plus faible** (< 0,5 g/l), il est recommandé de précipiter les protéines par addition d'une solution d'acide trichloracétique et les reprendre ensuite dans un (faible) volume d'eau bidistillée.

Préparation de la solution d'acide trichloracétique (solution TCA) : dissoudre prudemment 5 g d'acide trichloracétique (art. 1.00807) dans 10 ml d'eau bidistillée (solution à 50 % poids/volume).

Exécution : Pour la précipitation, ajouter 0,2 ml de solution TCA à 50 % (poids/volume) pour 1 ml d'échantillon, mélanger et centrifuger. Jeter le surnageant et dissoudre le précipité avec un volume défini d'eau bidistillée (éventuellement inférieur). Cet échantillon sert pour l'essai.

Quantité estimée de protéines dans
l'échantillon (g/l)

< 0,5
0,5 - 5,0
1 - 10
> 10

Précipitation TCA
Domaine de mesure 2
Domaine de mesure 1
Dilution

Préparation de solutions étalon

La calibration peut être effectuée en principe avec toutes les préparations protéiniques homogènes et autant que possible pures. Comme substance de référence, on emploie habituellement de l'albumine provenant de sérum bovin (BSA). Pour préparer les solutions étalon, dissoudre dans un ballon jaugé autant que possible 1 g exactement d'albumine provenant de sérum bovin (art. 1.12018) dans 100 ml d'eau bidistillée. Cette solution mère (10 g/l) peut encore progressivement être diluer:

Domaine de mesure 1 (1 - 10 g/l)

Solutions étalon (g/l)	1	2	4	6	8	10
Solution mère de protéines (ml) (10 g/l de BSA)	1	2	4	6	8	10
Eau bidistillée (ml)	9	8	6	4	2	-

Domaine de mesure 2 (0,5 - 5,0 g/l)

Solutions étalon (g/l)	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Solution mère de protéines (ml) (10 g/l de BSA)	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Eau bidistillée (ml)	9,5	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0

Les solutions étalon peuvent être stockées en fractions aliquotes pendant env. 6 mois à -20 °C.

Réalisation des dosages

Les mesures sont réalisées de préférence dans des cuves jetables en matière plastique (épaisseur de la couche 1 cm) à 546 nm. Le calibrage à zéro du photomètre peut s'effectuer soit contre l'air, soit contre l'eau.

Schéma de pipettage Domaine de mesure 1 (1 -10 g/l)	Echantillon ou solution étalon	Valeur à blanc des réactifs
Echantillon / solution étalon	0,5 ml	-
Eau bidistillée	-	0,5 ml
Solution réactionnelle de Biuret	2,0 ml	2,0 ml

Mélanger soigneusement et incuber 30 minutes à la température ambiante. Puis mesurer les extinctions à 546 nm.

Schéma de pipettage Domaine de mesure 2 (0,5 - 5,0 g/l)	Echantillon ou solution étalon	Valeur à blanc des réactifs
Echantillon / solution étalon	1,0 ml	-
Eau bidistillée	-	1,0 ml
Solution réactionnelle de Biuret	2,0 ml	2,0 ml

Mélanger soigneusement et incuber 30 minutes à la température ambiante. Puis mesurer les extinctions à 546 nm.

Calcul

Calculer les différences d'extinction $\Delta E = E_{\text{Solution étalon}} - E_{\text{Valeur à blanc}}$ et $\Delta E = E_{\text{Echantillon}} - E_{\text{Valeur à blanc}}$.
Pour établir une courbe de calibration, les différences ΔE sont rapportées contre les concentrations standard de protéines correspondantes. Le dosage de la teneur en protéines d'échantillons inconnus s'effectue soit graphiquement à partir de la courbe de calibration établie, soit calculé par la pente des droites établie. [Pour quelques protéines importantes, les pentes ont été réunies en tableau (« facteurs de Biuret »).^{1]}

Remarque : Si l'échantillon a été dilué avant la mesure, le résultat doit encore être multiplié par le facteur f de dilution correspondant.

Perturbations

Bien que peu de substances perturbent la méthode du Biuret, en font partie quelques substances qui sont employées fréquemment dans la chimie des protéines, comme p.ex. le sulfate d'ammonium, le tris, la glycérine et le saccharose⁵. En présence de ces substances, effectuer une précipitation TCA avant le dosage. Les lipides peuvent aussi perturber par leur turbidité. Une addition d'un maximum de 3 % de désoxycholate de sodium peut rendre service.

Informations de commande - réactifs

Art.	Désignation	Présentation
1.10307	Protéines (selon la méthode de Biuret) Solution réactionnelle pour env. 250 dosages	500 ml
1.00807	Acide trichloracétique pour analyses EMSURE® ACS	100 g, 250 g
1.12018	Albumine Fraction V	25 g, 100 g

Nous proposons aussi une deuxième solution réactionnelle prête à l'emploi pour le dosage des protéines :

Art.	Désignation	Présentation
1.10306	Protéines (selon la méthode de Bradford) Solution réactionnelle pour env. 200 dosages	500 ml

Références

- Kresze, G.-B.; in: Meth. Enz. Anal. (Bergmeyer, H. U., u. GraBl, M., eds.), Vol. **2**, 86-88 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim (1983)
- Doumas, B. T., et al.; Clin. Chem. **27**, 1642-1650 und 1651-1654 (1981)
- Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: L 06.00-23 (Mai 1986), L 07.00 36 (Mai 1986) und L 08.00-28 (Mai 1986)
- Beisenherz, G., et al.; Z. Naturf. **8b**, 555-577 (1953)
- Thorne, C. J. R.; in: Techniques in Protein and Enzyme Biochemistry (Kornberg, H. L., et al. eds.), **Pt. 1, B 104**, 1-18, Elsevier-North Holland, Amsterdam (1978)

MilliporeSigma est le nom de l'activité Life Science américaine et canadienne de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés.
MilliporeSigma, Supelco et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.
Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs. Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**

1.10307.0500

Proteínas (según el método de Biuret)

Art. 1.10307.0500

Proteínas (según el método de Biuret)
Solución reactiva para aprox. 250 determinaciones

Intervalos de medida

Intervalo de medida 1: 1 - 10 g/l

Intervalo de medida 2: 0,5 - 5,0 g/l

Método de determinación

Las proteínas, en una solución de sulfato de cobre alcalina que contenga tartratos (reactivo de Biuret) forman un complejo de color violeta azulado. La extinción (absorción) de las soluciones de medición se miden normalmente a 546 nm. Se determina el contenido de proteínas en las muestras por calibración mediante soluciones patrón de proteínas.¹⁻³

Contenido del envase, almacenamiento y estabilidad

Un frasco contiene 500 ml de solución de Biuret y es suficiente para aprox. 250 determinaciones. La solución se puede utilizar como mínimo durante 12 meses a temperatura ambiente. En caso de almacenamiento en el refrigerador entre + 2 y + 8 °C se puede utilizar como mínimo durante 2 años.

Preparación de las muestras

Las soluciones de las muestras deberían ser limpiadas y no mostrar coloración propia. Las **soluciones de las muestras turbias** se centrifugan o se filtran. En el caso de **soluciones coloreadas de las muestras** y en el caso de muestras con **pequeño contenido de proteínas** (< 0,5 g/l) se recomienda precipitar las proteínas por adición de solución de ácido tricloracético a partir de un volumen definido y seguidamente recogerlo otra vez en un volumen (menor) de agua bidestilada.

Preparación de la solución de ácido tricloracético (solución de TCA): Se disuelven cuidadosamente 5 g de ácido tricloracético (art. 1.00807) en 10 ml de agua bidestilada (solución al 50 % [p/v]). Técnica: Para la precipitación se añade por 1 ml de solución de la muestra 0,2 ml de solución de TCA al 50 % (p/v), se mezcla y se centrifuga. El sobre nadante se desecha y el precipitado se disuelve con un volumen definido (eventualmente algo menor) de agua bidestilada. Esta solución de la muestra se utiliza para el test.

Cantidad estimada de proteína en la muestra (g/l)	
< 0,5	Precipitación con TCA
0,5 - 5,0	Intervalo de medida 2
1 - 10	Intervalo de medida 1
> 10	Dilución

Preparación de las soluciones patrón

La calibración puede realizarse en principio con cualquier preparado de proteínas homogéneo y lo más puro posible. Como sustancia de referencia se utilizan normalmente albúmina de suero bovino (BSA). Para preparación de las soluciones patrón se disuelve en un matraz aforado lo más exactamente posible 1 g de albúmina de suero bovino (art. 1.12018) en 100 ml de agua bidestilada. Esta solución primaria (10 g/l) puede continuarse diluyéndose por etapas:

Intervalo de medida 1 (1 - 10 g/l)

Soluciones patrón (g/l)	1	2	4	6	8	10
Solución primaria de proteínas (ml) (10 g/l de BSA)	1	2	4	6	8	10
Agua bidestilada (ml)	9	8	6	4	2	-

Intervalo de medida 2 (0,5 - 5,0 g/l)

Soluciones patrón (g/l)	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Solución primaria de proteínas (ml) (10 g/l de BSA)	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Agua bidestilada (ml)	9,5	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0

Las soluciones patrón pueden conservarse alicuotadas durante aprox. 6 meses a -20 °C.

Técnica de las determinaciones

La mejor manera de realizar las mediciones es en cubetas de uso único de plástico (espesor de capa 1 cm) a 546 nm. La compensación del cero del fotómetro puede realizarse frente a aire o frente a agua.

Esquema de pipeteo Intervalo de medida 1 (1 -10 g/l)	Muestra o resp. solución patrón	Valor en blanco de los reactivos
Solución de la muestra / solución patrón	0,5 ml	-
Agua bidestilada	-	0,5 ml
Solución reactiva de Biuret	2,0 ml	2,0 ml

Mezclar bien e incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Seguidamente medir las extinciones (absorciones) a 546 nm.

Esquema de pipeteo Intervalo de medida 2 (0,5 - 5,0 g/l)	Muestra o resp. solución patrón	Valor en blanco de los reactivos
Solución de la muestra / solución patrón	1,0 ml	-
Agua bidestilada	-	1,0 ml
Solución reactiva de Biuret	2,0 ml	2,0 ml

Mezclar bien e incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Seguidamente medir las extinciones (absorciones) a 546 nm.

Evaluación

Se calculan las diferencias de extinción $\Delta E = E_{\text{Solución patrón}} - E_{\text{Valor en blanco}}$ y $\Delta E = E_{\text{Muestra}} - E_{\text{Valor en blanco}}$. Para establecer la curva de calibrado se aplican los valores ΔE frente a las correspondientes concentraciones patrón de proteínas. La determinación del contenido de proteínas de muestras desconocidas tiene lugar o bien gráficamente en base a la curva de calibrado determinada o por cálculo mediante la pendiente determinada de las rectas. (Para algunas proteínas importantes se agrupan las pendientes en una tabla [“factores de Biuret”]).

Nota: Si se diluyó la muestra antes de la medición, el resultado debe multiplicarse todavía por el correspondiente factor de dilución f.

Interferencias

Aunque sólo pocas sustancias interfieren en el método de Biuret, algunas de tales sustancias encuentran aplicación frecuente en la química de proteínas, como p. ej. sulfato amónico, tris, glicerina y sacarosa⁷. En presencia de estas sustancias debería realizarse antes de la determinación una precipitación con TCA. Los lípidos pueden conducir igualmente a interferencias por turbidez. Aquí puede ser muy útil añadir hasta un 3 % de desoxicolato sódico.

Informaciones para pedido de los reactivos

Art.	Denominación	Tamaño del envase
1.10307	Proteínas (según el método de Biuret) Solución reactiva para aprox. 250 determinaciones	500 ml
1.00807	Ácido tricloracético para análisis EMSURE® ACS	100 g, 250 g
1.12018	Albúmina fracción V	25 g, 100 g

Ofrecemos una segunda solución reactiva lista para el uso para determinación de proteínas:

Art.	Denominación	Tamaño del envase
1.10306	Proteínas (según el método de Bradford) Solución reactiva para aprox. 200 determinaciones	500 ml

Bibliografía

- Kresze, G.-B.; in: Meth. Enz. Anal, (Bergmeyer, H. U., u. GraBl, M., eds.), Vol. **2**, 86–88 3rd ed., Verlag Chemie, Weinheim (1983)
- Doumas, B. T., et al.; Clin. Chem. **27**, 1642–1650 und 1651–1654 (1981)
- Amtl. Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG: L 06.00–23 (Mai 1986), L 07.00 36 (Mai 1986) und L 08.00–28 (Mai 1986)
- Beisenherz, G., et al.; Z. Naturf. **8b**, 555–577 (1953)
- Thorne, C. J. R.; in: Techniques in Protein and Enzyme Biochemistry (Kornberg, H. L., et al. eds.), **Pt. 1, B 104**, 1–18, Elsevier-North Holland, Amsterdam (1978)

MilliporeSigma es la unidad Life Science de los Estados Unidos y Canadá de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados.
MilliporeSigma, Supelco y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.
Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**