

蛋白含量检测的抗干扰新方法

董源, 汤灵玲, 林林, 卢山

南京师范大学生命科学学院 江苏省分子医学生物技术重点实验室, 江苏 南京 210046

董源, 汤灵玲, 林林, 等. 蛋白含量检测的抗干扰新方法. 生物工程学报, 2012, 28(9): 1130-1138.

Dong Y, Tang LL, Lin L, et al. New protein assay with improved tolerability to interference. Chin J Biotech, 2012, 28(9): 1130-1138.

摘要: 为提高蛋白质含量检测方法的抗干扰能力, 从福林酚试剂法入手, 以牛血清白蛋白为标准样品, 重新设计制定实验试剂组成与配比等, 获得蛋白质含量检测新方法, 然后探讨新方法的适用检测波长范围和稳定性, 并利用细胞全蛋白裂解液分析它对多种常见干扰物质的包容性。实验发现, 新方法不仅能准确检测蛋白质含量, 对蛋白质测定液中表面活性剂的耐受浓度, 如十二烷基硫酸钠 (SDS)、NP-40 和 TritonX-100 分别达到 10%、2% 和 1%; 螯合剂乙二胺四乙酸二钠盐 (EDTA) 和 Ethylene glycol bis (2-aminoethyl) tetraacetic acid (EGTA) 则分别达 25 mmol/L 和 1 mmol/L; 对还原剂二硫苏糖醇 (DTT) 和 β -ME 的包容浓度均为 1 mmol/L; 而含氮化合物硫酸铵与尿素则分别为 0.5 mol/L 和 4 mol/L。与原方法相比较, 对常见干扰物质的耐受性有显著提高, 说明新方法适用含多种干扰物质的蛋白质溶液, 在生命科学研究领域具有广泛应用前景。

关键词: 蛋白质定量, 干扰物质, 表面活性剂, 螯合剂, 还原剂, 含氮化合物, 耐受性

New protein assay with improved tolerability to interferences

Yuan Dong, Lingling Tang, Lin Lin, and Shan Lu

Jiangsu Provincial Key Laboratory of Molecular Medicine, Nanjing Normal University College of Life Science, Nanjing 210046, Jiangsu, China

Abstract: Routine protein assays are usually affected with various compounds, and we need to use different protein quantification protocol to deal with different interference. In order to simplify the procedure, we developed a new method, in which the components and concentrations of the reagents were modified mainly based on classic Folin-Ciocalteu's reagent for reducing the susceptibility to interfering substances. Standard curves of the new method were established with

Received: February 22, 2012; **Accepted:** May 23, 2012

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 81172007), Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2010542), Natural Science Foundation of the Jiangsu Higher Education Institutions of China (Nos. 09KJA180003, 09KJB180004).

Corresponding author: Shan Lu. E-mail: lu_shan@hotmail.com

国家自然科学基金 (No. 81172007), 江苏省自然科学基金 (No. BK2010542), 江苏省普通高校自然科学研究计划项目 (Nos. 09KJA180003, 09KJB180004) 资助。

different levels of bovine serum albumin, and then, we assessed and evaluated the detectable wavelengths and stability. In particular, the tolerability to several interfering substances was analyzed by using cytolysis solutions containing different chemicals. Our data in this study show that the new method could be applied to detecting protein concentrations accurately, even in the presence of surfactants such as 10% sodium dodecyl sulfate (SDS), 2% NP-40, or 1% TrintonX-100, chelators of 25 mmol/L EDTA or 1 mmol/L Ethylene glycol bis (2-aminoethyl) tetraacetic acid (EGTA), reductants of 1 mmol/L Dithiothreitol (DTT) or β -Mercaptoethanol (ME), or nitrogen-containing compounds of 0.5 mol/L ammonium sulphate or 4 mol/L urea. Taken together, these results indicate that the new approach significantly improves the tolerance to the interfering substances, which could be potentially useful in measuring the contents of proteins interfered with such substances.

Keywords: protein quantification, interfering substances, surfactant, chelator, reductant, nitrogen-containing compound, tolerability

蛋白质定量检测是生命科学研究领域广泛涉及的重要生物化学分析内容。多年以来,尽管有先进的蛋白检测方法如质谱、荧光分析等^[1-2]在不断发展,而福林酚试剂 (Folin-Ciocalteu's reagent)、二辛可宁酸 (Bicinchoninic acid, BCA) 和考马斯亮蓝 G-250 (Coomassie brilliant blue G-250, CBB, 也被称作 Bradford) 等仍然是最常规使用的比色测定方法^[3]。这些方法是利用氧化还原反应产物或者染料-蛋白质络合物的颜色深浅与蛋白质浓度间存在的线性关系而绘制标准曲线来测定样品中可溶性蛋白浓度的,但在实际应用中,常常会因为多种化学物质干扰而影响检测结果,导致使用局限^[4]。

例如,福林酚试剂法会受到表面活性剂、金属离子螯合剂、还原剂及含氮化合物^[5-6]等的严重干扰;BCA 方法虽然受表面活性剂影响小,但对金属离子螯合剂、还原剂等的存在很敏感^[5];CBB 法与福林酚试剂法类似,对表面活性剂的耐受性差^[7],所以这些方法总会因为蛋白质测定液中非蛋白组分的存在而影响蛋白质含量的精确测定,具体使用时,通常需要针对不同的干扰物质选用不同的测定方法。如果蛋白液中存在表面

活性剂,可以选用 BCA 方法检测蛋白质含量;而蛋白溶液中含有金属离子螯合剂,就需要替换为 CBB 法检测蛋白质含量。这样,不仅给蛋白质含量检测带来操作上的不便,也使得不同溶液中蛋白质含量的比较分析成为困难,还可能对后续实验的可靠性产生影响,因此,人们总希望能够找到好方法解除干扰。有研究针对某些特定的样品如骨骼肌^[8],或某些特定操作如聚丙烯酰胺双向凝胶电泳^[9],探讨适宜的检测方法;也有文献报道,通过检测 850 nm 吸收值对 CBB 法进行药液蛋白质含量分析中羧乙烯聚合物 (Carbopol) 产生的干扰进行校正^[10];而含糖蛋白溶液则可以通过蛋白质沉淀又溶解的方法来去除糖分导致的干扰^[11]等;但迄今为止,对于多种常见的干扰物质并没有很好的解决办法,所以开发简便的受多种干扰物质影响小的蛋白质定量检测方法十分必要。

本研究在广泛使用的福林酚试剂法^[12]的基础上,重新设计制定实验试剂的组成与配比以及操作程序,建立蛋白质检测新方法的同时又探讨新方法发色产物的优选检测波长以及稳定性,还分析新方法对多种常见干扰物质的包容性,能够

为蛋白质的快速准确定量提供方便。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂

牛血清白蛋白 (Bovine serum albumin, BSA)、苯甲基磺酰氟 (Phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF) 从 Sigma 公司购入, 蛋白酶抑制剂混合物 (Protease inhibitor cocktail, PIC) 购自 Roche 公司。聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100)、 β -巯基乙醇 (β -Mercaptoethanol, β -ME) 和乙二胺四乙酸二钠盐 (EDTA·Na₂, EDTA) 购自 Amresco 公司。二硫苏糖醇 (Dithiothreitol, DTT)、乙二醇二乙醚二胺四乙酸 (Ethylene glycol bis (2-aminoethyl) tetraacetic acid, EGTA)、硫酸铵 (Ammonium sulfate, (NH₄)₂SO₄) 和尿素 (Urea) 购自 Bio Basic 公司。福林酚试剂由上海荔达生物科技有限公司出品。细胞培养用胎牛血清 (Fetal bovine serum, FBS) 为 PAA Laboratories 公司生产, 低限基本培养基 (Minima essential medium, MEM) 粉末购自 GIBCO 公司。十二烷基硫酸钠 (Sodium dodecyl sulfate, SDS)、钒酸钠 (Na₃VO₄) 等其他常用试剂购自国药集团。

1.1.2 主要仪器

CO₂ 细胞培养箱 (Thermo Scientific 公司), 酶标仪 (Bio-TEK 公司), 小型涡旋器。

1.2 方法

1.2.1 标准样品的制备

称取一定量 BSA 溶解于蒸馏水中, 调配终浓度为 4 g/L, -20 °C 贮存备用。

1.2.2 动物细胞裂解液的制备及干扰物质的添加

细胞全蛋白待测样品是通过裂解液收集、破

碎细胞而获取的上清液^[13], 因此细胞蛋白质含量测定中的非蛋白干扰物质主要来源于裂解液组分 (细胞体积可忽略不计), 细胞裂解液里添加的干扰成分的含量即为待测样品干扰物质的浓度。首先制备 10 倍基本裂解液 (200 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 1.5 mol/L NaCl, 10 mmol/L EDTA 和 10% SDS), 保存于 -20 °C。使用前冰上稀释, 并根据实验要求分别添加不同含量的各种干扰组分如 DTT 或者 β -ME 等, 以及 1 mmol/L Na₃VO₄, 1 mmol/L PMSF 和 1×PIC。当讨论表面活性剂对蛋白测定的干扰时, 基本裂解液组成不包含 SDS, 而各表面活性剂浓度按照具体实验设计要求添加。

1.2.3 动物细胞培养及全蛋白提取

将 1.5×10⁶ 人前列腺癌细胞 PC-3 接种于 10 mL 含 5% FBS-MEM 培养基的 100 mm 细胞培养皿, 在 5% CO₂, 37 °C 细胞培养箱内培养, 生长至 50% 饱和以上时, 用 4 °C 预冷的 PBS(-) 洗涤 2 次后, 加入 500 μ L 预冷的 PBS (-), 然后用刮棒冰上收集细胞, 并平均分配细胞液于 1.5 mL 离心管, 4 °C、10 000×g 离心 10 min, 去上清, 再移入包含不同成分的细胞裂解液, 涡旋振荡, 放置冰上 30 min, 重复离心操作, 收集上清液用于蛋白质含量测定, 也可以放置 -20 °C 保存备用。

1.2.4 蛋白定量新方法&标准曲线的建立

分别配制 A 贮存液 (含 1.89 mol/L 碳酸钠和 1 mol/L 氢氧化钠), B 贮存液 (含 0.25% 酒石酸钠 (W/V)、0.125% 硫酸铜 (W/V) 和 2.5% SDS (W/V)) 及 C 发色液 (为 2 mol/L 福林酚原液的 10 倍稀释液, 用 HCl 调整 pH 至 1) 于室温下存放。

将 BSA 标准蛋白溶液按照二倍稀释法用蒸馏水稀释至最低浓度为 0.0625 g/L 的 7 个梯度浓度, 分别取 5 μ L BSA 标准溶液各梯度样品放入 96 孔细胞培养板中; 每个标准样品至少有 3 个重复样, 空白对照为同体积的蒸馏水; 然后加入 25 μ L 工作液 (临用前混合 50 个体积 A 贮存液与 1 个体积 B 贮存液)。再加入 200 μ L 发色液, 混合均匀, 室温下放置 30 min, 利用酶标仪在 570~630 nm 范围任一波长下测定吸光值。获取数值后输入 Excel 软件, 横坐标为标准样品浓度, 纵坐标为对应吸光值, 然后添加趋势线, 获得线性回归方程及线性相关系数。另外, 将标准样品连续放置 0.3、1、2、4、8、24 h 后在 630 nm 波长下检测吸光值, 用于比较标准曲线的稳定性。

1.2.5 蛋白定量新方法对干扰物质的耐受性分析

进行标准曲线实验的同时, 将与标准蛋白溶液同样体积的 0.1~4 g/L 浓度区间的细胞蛋白样品也加入 96 孔板中, 每个待测样品至少有 3 个重复样; 然后每个样品添加 25 μ L 工作液, 最后加入 200 μ L 发色液, 混合均匀, 室温下放置 30 min, 利用酶标仪在 590 nm 波长下测定吸光值。获得数值后绘制标准曲线, 并获取线性回归方程, 再将待测样品吸光值导入标准曲线回归方程计算样品中蛋白质含量。

1.2.6 统计方法

所有实验至少有 2 次重复。在此显示的测定数值都以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism software (Version 5.0) 的学生双尾 t 检验方法, 对 2 组数据进行比较分析。 $P < 0.05$, 说明平均值水平有显著差异, 以 * 表示; $P < 0.01$, 以 ** 表示; $P < 0.005$, 以 *** 表示。

2 结果与分析

2.1 不同吸收波长下的 BSA 标准曲线和发色产物稳定性的比较

以 BSA 为标准样品, 分别在 570、595 或 630 nm 波长下绘制的标准曲线如图 1 所示, 其相应的线性相关系数平方 (R^2) 值分别为 0.998、0.998 或 0.997, 均大于通常标准曲线要求的 R^2 值 (0.996)^[14], 说明用该标准品作标准曲线, 所求的回归方程是有意义的, 且在上述波长范围均可用作新方法的检测波长, 其中 595 nm 处获得的标准曲线的吸光值最大, 为优选波长。此外, 630 nm 波长下最高浓度标准样品的吸光值随时间变化的曲线如图 2 所示, 可以看出 4 h 内几乎没有变化, 8 h 后下降约 1.8%, 24 h 后下降 14%, 说明新方法获得的发色产物在数小时内颜色基本能够保持恒定。

2.2 表面活性剂对细胞蛋白质含量测定的影响

细胞裂解液中 SDS 含量不断上升时, 新方法对蛋白质浓度测量结果见图 3A。SDS 含量即使高达 10%, 细胞全蛋白浓度也几乎没有变化。

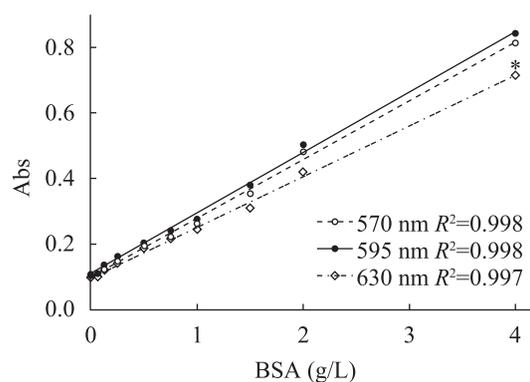


图 1 蛋白质定量检测的 BSA 标准曲线

Fig. 1 BSA standard curves for protein assay.

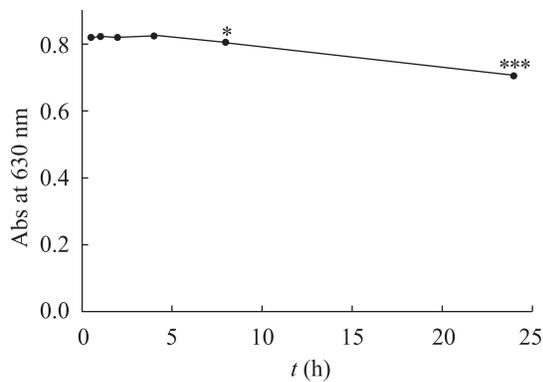


图2 发色产物最大吸光值 24 h 内的变化

Fig. 2 Time course for maxi-Absorbances during 24 h.

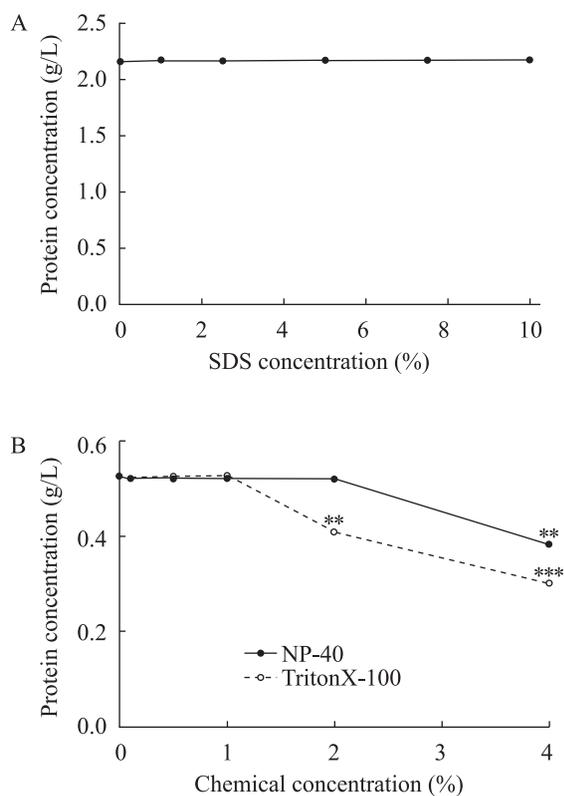


图3 表面活性剂存在下细胞全蛋白含量的检测

Fig. 3 Protein assay for cell lysates in the presence of 3 surfactants, respectively. (A) Lysis buffer containing SDS. (B) Lysis buffer containing NP-40 or TritonX-100.

如果采用其他的常用表面活性剂 TritonX-100 或 NP-40 来处理细胞, 则蛋白质浓度测量结果的变化见图 3B, 当 TritonX-100 含量小于或等于 1%, NP-40 含量小于或等于 2%, 对蛋白定量没有明显的影响。

2.3 金属离子螯合剂对细胞全蛋白定量的影响

不同浓度金属离子螯合剂 EDTA 或 EGTA 存在下, 新方法对细胞蛋白质浓度的检测结果如图 4 所示, 50 mol/L EDTA 使蛋白质浓度显著降低, 而 2 mmol/L EGTA 使蛋白质浓度下降了 42%。但是 EDTA 与 EGTA 浓度分别为 25 mmol/L 或 1 mmol/L 及以下则对蛋白质检测没有明显干扰。

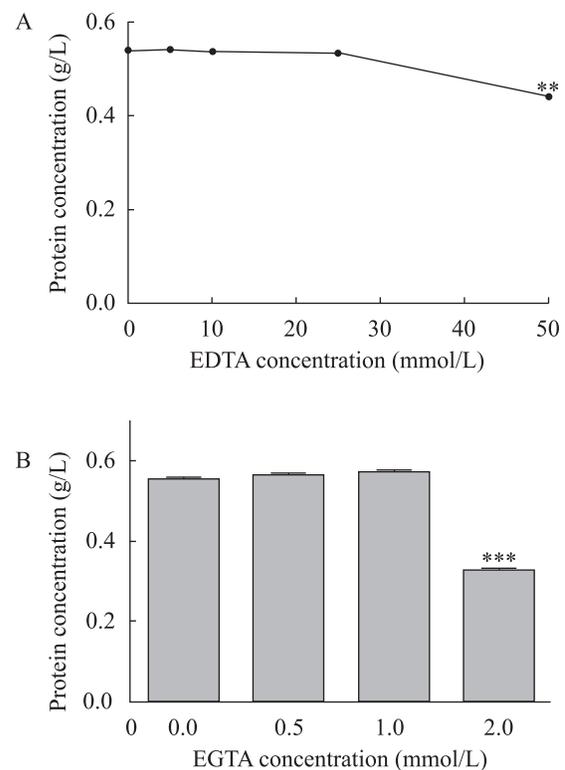


图4 金属离子螯合剂存在下全蛋白含量的检测

Fig. 4 Protein assay for cell lysates in the presence of chelators, respectively. (A) EDTA. (B) EGTA.

2.4 还原剂对细胞全蛋白定量的影响

新方法对含有不同浓度 DTT 或 β -ME 的细胞蛋白裂解液进行的定量测定结果见图 5, 可以看出样品溶液中包含 DTT 或 β -ME 在 1 mmol/L 及以下对蛋白质浓度检测没有显著影响。

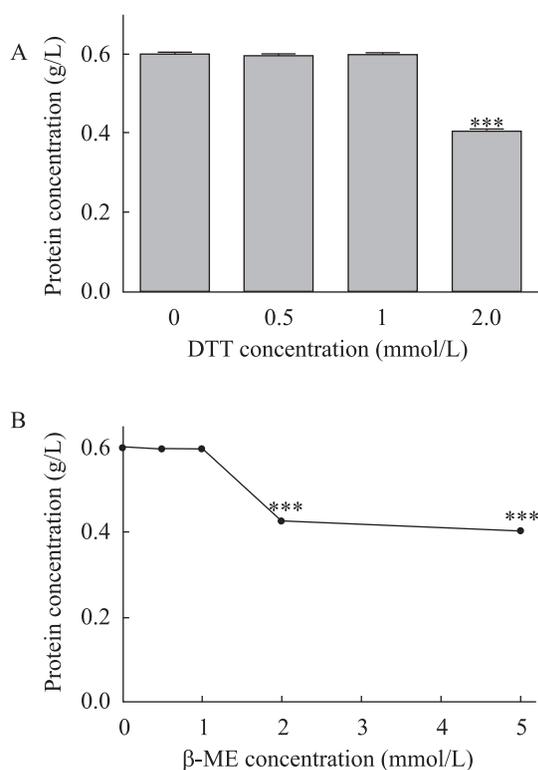


图 5 还原剂存在下全蛋白含量的检测

Fig. 5 Protein assay for cell lysates in the presence of reductants, respectively. (A) DTT. (B) β -ME.

2.5 含氮物质对细胞全蛋白定量的影响

常用的含氮物质硫酸铵和尿素存在时, 细胞蛋白定量的结果如图 6 所示, 蛋白质溶液中硫酸铵含量小于或等于 0.5 mol/L, 或尿素含量小于或等于 4 mol/L 对蛋白质检测不会造成显著干扰。

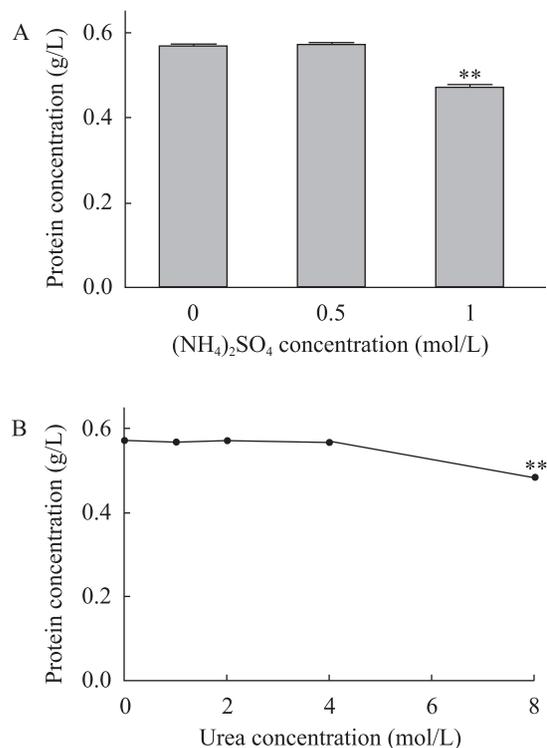


图 6 含氮化合物存在下全蛋白含量的检测

Fig. 6 Protein assay for cell lysates in the presence of nitrogen-containing compounds, respectively. (A) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. (B) Urea.

3 讨论

福林酚试剂法是 1951 年 Lowry 等^[15]在双缩脲反应基础上, 引入福林酚试剂来扩大反应信号的蛋白质含量检测方法, 因此又被称作 Lowry 法。主要依据是利用碱性条件下 Cu^{2+} 与肽骨架的 $-\text{CO}-\text{NH}-$ 基团形成的蓝色络合物将磷钨酸和磷钼酸还原为钨和钼蓝而进一步呈色的结果^[16]。常用的试剂组成如表 1 所示, 首先使蛋白质样品置于碱性环境, 然后与 CuSO_4 试剂混合, 室温放置约 15 min, 再加入福林酚试剂放置 45 min, 660 nm 波长下测定吸光值。此方法的主要缺点是对许多

表 1 比较新方法 with 目前常用的福林酚法试剂配比及组成

Table 1 Comparison for reagent components between new and Folin-Ciocalteu's reagent protein assay

Reagents	Folin-Ciocalteu ^[12]	New
A	2% Na ₂ CO ₃ , 0.4% NaOH, 0.16% Sodium tartrate, 1% SDS	20% Na ₂ CO ₃ , 5% NaOH
B	4% CuSO ₄	0.25% Sodium tartrate, 0.125% CuSO ₄ , 2.5% SDS
C	1 mol/L Folin-Ciocalteu's reagent	10-fold dilution from 2 mol/L Folin-Ciocalteu's reagent, pH 1
A:B	100:1 (V/V)	50:1 (V/V)

干扰物质的包容性差,如表面活性剂 TritonX-100 或 SDS 含量仅达 1%, 金属离子螯合剂 EDTA 浓度达到 10 mmol/L, 尿素含量达 3 mol/L, 或硫酸铵含量达 3% (约 0.227 mol/L), 以及还原剂如硫醇等的存在就会严重干扰测试结果^[5-6,17]。

长久以来,有相关文献报道对此方法在不同领域的应用进行改良^[18-20],有的增加了操作的复杂性,但效果仍然有限。本研究探讨的新方法没有对原方法繁杂化,且将 SDS 耐受性提高了约 10 倍。实验中 SDS 浓度没有进一步增加,是因为待测样品溶液的粘度随着 SDS 浓度的上升而不断增加,几乎已达到操作的极限,这应该是 SDS 作为表面活性剂在溶液中的增稠作用所导致的。另外,少量 TritonX-100 和 NP-40 也不影响测定结果,可见新方法对表面活性剂的包容性明显增加,这可能与 B 贮存液中添加的少量 SDS 有关联^[21]。

新方法对金属离子螯合剂 EDTA 耐受浓度增加 1 倍以上,这可能是因为 B 贮存液的 Cu²⁺ 浓度显著降低而减少了工作液中螯合剂能够结合的底物,因此提高了对螯合剂的包容性。

同时,新方法对还原剂 DTT 和 β-ME 均显示出一定的耐受性;对含氮化合物如硫酸铵的包容性增加 2 倍,对尿素的耐受性也有所提高,但相关机理不清楚。这可能是新方法显著增强蛋白质样品在未加入福林酚试剂前的碱性环境,使 Cu²⁺与肽骨架的-CO-NH-基团形成的蓝色络合物反应更完全的影响;而且我们实验使用的蛋白质含量检测范围明显高于常用福林酚试剂法的 5~100 mg/L^[12],因此新方法对干扰物质包容性的增强也可能与检测灵敏度的变化相联系,需要将来进一步分析验证。此外,本实验仅以细胞裂解液为测定样品,没有尝试其他蛋白样品的检测,也没有针对福林酚试剂法的其他干扰成分如糖类、氨基酸及多肽的影响进行探讨,因此新方法的适用范围等还有待深入研究。

综上所述,新方法操作简单、迅速,实验结果重复性好,稳定性高,检测范围 0.1~4 g/L,对多种常见干扰成分具有较好的包容性,如表 2 所示,适用不同裂解液制备的细胞蛋白检测,在生命科学研究领域应具有广泛应用前景。

表 2 新方法对常见干扰物质的最大耐受浓度

Table 2 Highest levels for interferences used in new assay

Interferences	Highest levels compatible in new assay
SDS (%)	10.0
NP-40 (%)	2.0
TritonX-100 (%)	1.0
EDTA (mmol/L)	25.0
EGTA (mmol/L)	1.0
DTT (mmol/L)	1.0
β -ME (mmol/L)	1.0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (mmol/L)	0.5
Urea (mol/L)	4.0

REFERENCES

- [1] Wang M, You J, Mass spectrometry for protein quantification in biomarker discovery. *Methods Mol Biol*, 2012, 815: 199–225.
- [2] Hieb AR, D'Arcy S, Kramer, MA, et al. Fluorescence strategies for high-throughput quantification of protein interactions. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(5): e33.
- [3] Melander C, Tømmeraas K. The influence of sodium hyaluronate molecular weight on protein content according to Lowry and Coomassie blue assays. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 74(3): 745–748.
- [4] Goldring JP. Protein quantification methods to determine protein concentration prior to electrophoresis. *Methods Mol Biol*, 2012, 869: 29–35.
- [5] Lozzi I, Pucci A, Pantani OL, et al. Interferences of suspended clay fraction in protein quantitation by several determination methods. *Anal Biochem*, 2008, 376(1): 108–114.
- [6] Walker JM. The Bicinchoninic Acid (BCA) assay for protein quantitation//*The Protein Protocols Handbook*. 3rd ed. Totowa, NJ: Humana Press Inc., 2009: 11–15.
- [7] Kruger NJ. The Bradford method for protein quantitation // *The Protein Protocols Handbook*, 3rd ed. Totowa: Humana Press Inc., 2009: 17–24.
- [8] Seevaratnam R, Patel BP, Hamadeh MJ. Comparison of Total Protein Concentration in Skeletal Muscle as Measured by the Bradford and Lowry Assays. *J Biochem*, 2009, 145(6): 791–797.
- [9] Kao SH, Wong HK, Chiang CY, et al. Evaluating the compatibility of three colorimetric protein assays for two-dimensional electrophoresis experiments. *Proteomics*, 2008, 8(11): 2178–2184.
- [10] Carlsson N, Borde A, Wolfel S, et al. Quantification of protein concentration by the Bradford method in the presence of pharmaceutical polymers. *Anal Biochem*, 2011, 411(1): 116–121.
- [11] Banik SP, Pal S, Ghorai S, et al. Interference of sugars in the Coomassie Blue G dye binding assay of proteins. *Anal Biochem*, 2009, 386(1): 113–115.
- [12] Lindeboom N, Wanasundara PKJPD. Interference of phenolic compounds in *Brassica napus*, *Brassica rapa* and *Sinapis alba* seed extracts with the Lowry protein assay. *Food Chem*, 2007, 104(1): 30–38.
- [13] Xu SS, Yan CL, Liu LM, et al. Effects of different cell lysis buffers on protein quantification. *J Zhejiang Univ: Med Sci*, 2008, 37(1): 45–50.
徐珊珊, 阎春兰, 刘黎明, 等. 细胞裂解液对蛋白质定量方法的影响. *浙江大学学报: 医学版*, 2008, 37(1): 45–50.
- [14] National Pharmacopoeia Committee. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, 2010 ed. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science & Technology, 2010.
国家药典委员会. *中华人民共和国药典-2010 年版*. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [15] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951, 193(1): 265–275.
- [16] Avella AC, Görner T, de Donato P. The pitfalls of

- protein quantification in wastewater treatment studies. *Sci Total Environ*, 2010, 408(20): 4906–4909.
- [17] Noble JE, Bailey MJA. Quantification of protein// Burgess RR, Deutscher MP, eds. *Guide to Protein Purification*. 2nd ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2009: 73–95.
- [18] Peterson GL. Review of the folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall. *Anal Biochem*, 1979, 100(2): 201–220.
- [19] Peterson GL. *Determination of Total Protein, Methods in Enzymology*. London: Academic Press, 1983, 91: 95–119.
- [20] Frølund B, Griebe T, Nielsen PH. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1995, 43(4): 755–761.
- [21] Field A, Field J. Melamine and cyanuric acid do not interfere with Bradford and Ninhydrin assays for protein determination. *Food Chem*, 2010, 121(3): 912–917.



Kerry集团旗下品牌Sheffield全新版中文网站已上线

全新版 Sheffield Bio-Science 网站 (www.sheffieldbioscience.com) 已经过品牌更新与重新美化，目的在于能够为客户提供网站导航的便捷性与易用性。全新版网站具有更简洁的版面，更友好应用页面与技术页面，以及更简便的搜索设置。同时具有中英双语，使客户的网站浏览更便捷。为客户在现今的全球市场竞争中提供有利的产品与信息资源。

全新版 Sheffield 中英文网站特点如下：

产品助手：一种创新网站交互工具。能够根据客户选定的标准与应用要求提供最优化的解决方案。

登陆页面：自助登陆入口。通过此页面，客户能够快速下载产品的技术资料，例如 MSDS (化学品安全说明书)，法规声明，应用说明以及技术手册。

诚邀您浏览 Sheffield 网站，了解更多关于 Kerry 集团的最新科技和相关应用支持。如果您有任何疑问或需要了解更多产品与服务信息，欢迎您联系我们。