

Определение активности каталазы в плазме крови

Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Снижение активности каталазы, при котором отмечается накопление перекиси водорода, говорит об уменьшении антиокислительной защиты организма.

Необходимая аппаратура:

- спектрофотометр;
- центрифуга.

Необходимые реактивы:

- 0,03% раствор перекиси водорода;
- 4,0% раствор молибдата аммония (к 4,0 г $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ м.в.196,1 добавить 96,0 мл дистиллированной воды. Если используемый молибдат аммония содержит воду, то необходимо внести соответствующую поправку).

Ход определения 0,1 мл свежевзятой сыворотки внести в 2,0 мл раствора перекиси водорода и точно выдержать 10 минут, а затем добавить 1,0 мл молибдата аммония (*цвет раствора при этом меняется и может появляться муть*). Затем исследуемые пробы в течение 20 минут центрифугировать при 3000 оборотах или больше времени при меньших оборотах. После чего осторожно слить надосадочную жидкость и определить оптическую плотность в 10 мм кюветах при длине волны 410 нм против контрольной пробы, состоящей из 2,0 мл дистиллированной воды и 1,0 мл молибдата аммония. Холостую пробу, у которой интенсивность окрашивания больше, готовят аналогично исследуемому образцу, но вместо сыворотки берут 0,1 мл дистиллированной воды.

	Контроль (мл)	Холостая проба (мл)	Исследуемая проба (мл)
Сыворотка	-	-	0,1
Дистиллированная вода	2,0	0,1	-
Гидроперекись	-	2,0	2,0
	Точно выдержать 10 минут, а затем внести молибдат аммония		
Молибдат аммония	1,0	1,0	1,0
	-		Центрифугировать 20 минут при 3000 оборотах
	Определить оптическую плотность при длине волны 410 нм		

Расчёт Активность каталазы в мкат/л рассчитывают следующим образом: Из показаний оптической плотности холостой пробы отнять показания оптической плотности пробы и умножить: на 0,1 (объем вносимой пробы в мл), на 600 (время инкубации в секундах) и на $22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (коэффициент миллимолярной экстинкции перекиси водорода) или на 1332.