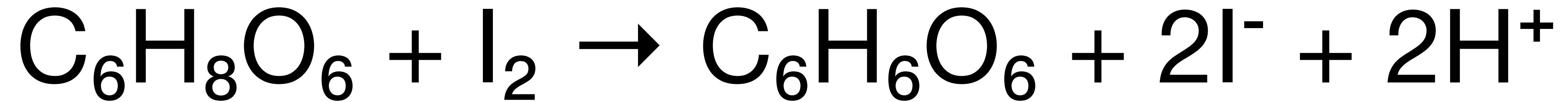
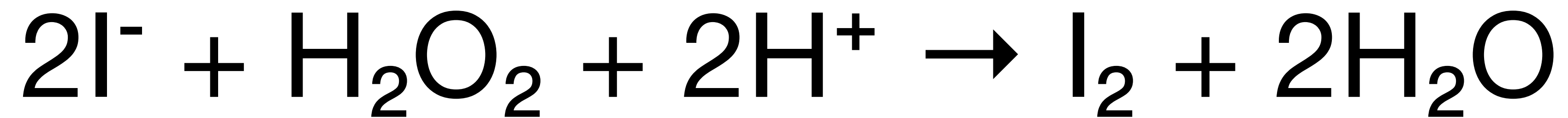


Zegar jodowy



(kwas askorbinowy)

(kwas askorbinowy)



Odczynniki

- roztwór skrobi (zawiesina):
łyżeczka mąki w 100 ml gorącej (80-90 °C) wody
- roztwór kwasu askorbinowego:
tabletkę witaminy C (100 mg) rozpuszczoną w 50 ml wody
- jodyna
- woda utleniona 3%
- zimna woda

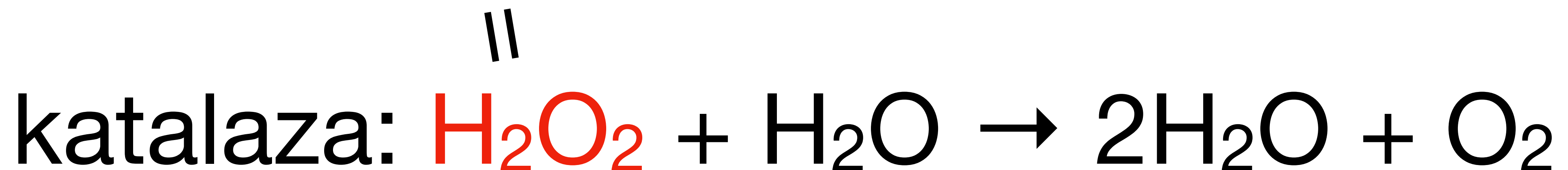
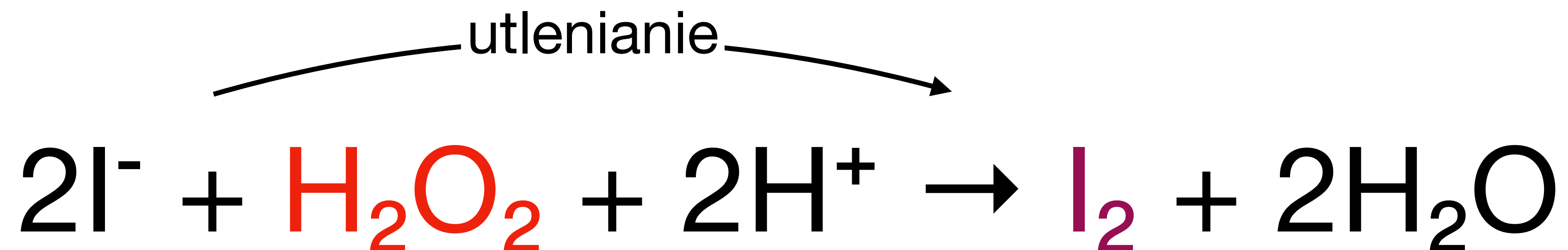
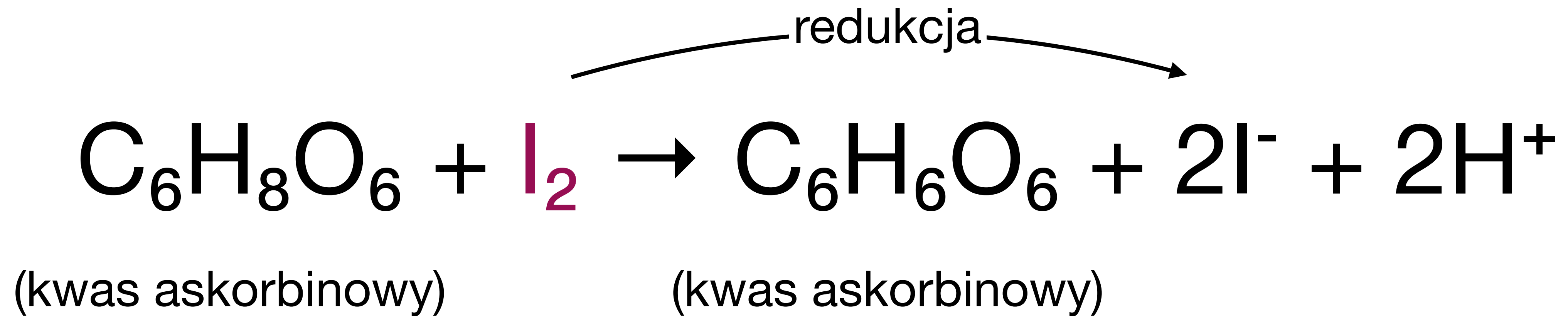
Wykonanie

w naczyniu o poj. 25 ml (albo większej)

- do naczynia wlać 1 ml jodyny
- dodać bardzo powoli 2 ml roztworu kwasu askorbinowego, roztwór zmienia barwę z brunatnej na cytrynową
- dodać ok. 0,8 ml zawiesiny skrobiowej
- dodać 8 ml zimnej wody
- dodać 8 ml wody utlenionej
- odczekać kilka minut – roztwór w mgnieniu oka zmienia barwę z cytrynowej na granatowo-czarną

Zegar jodowy w pomiarze aktywności katalazy

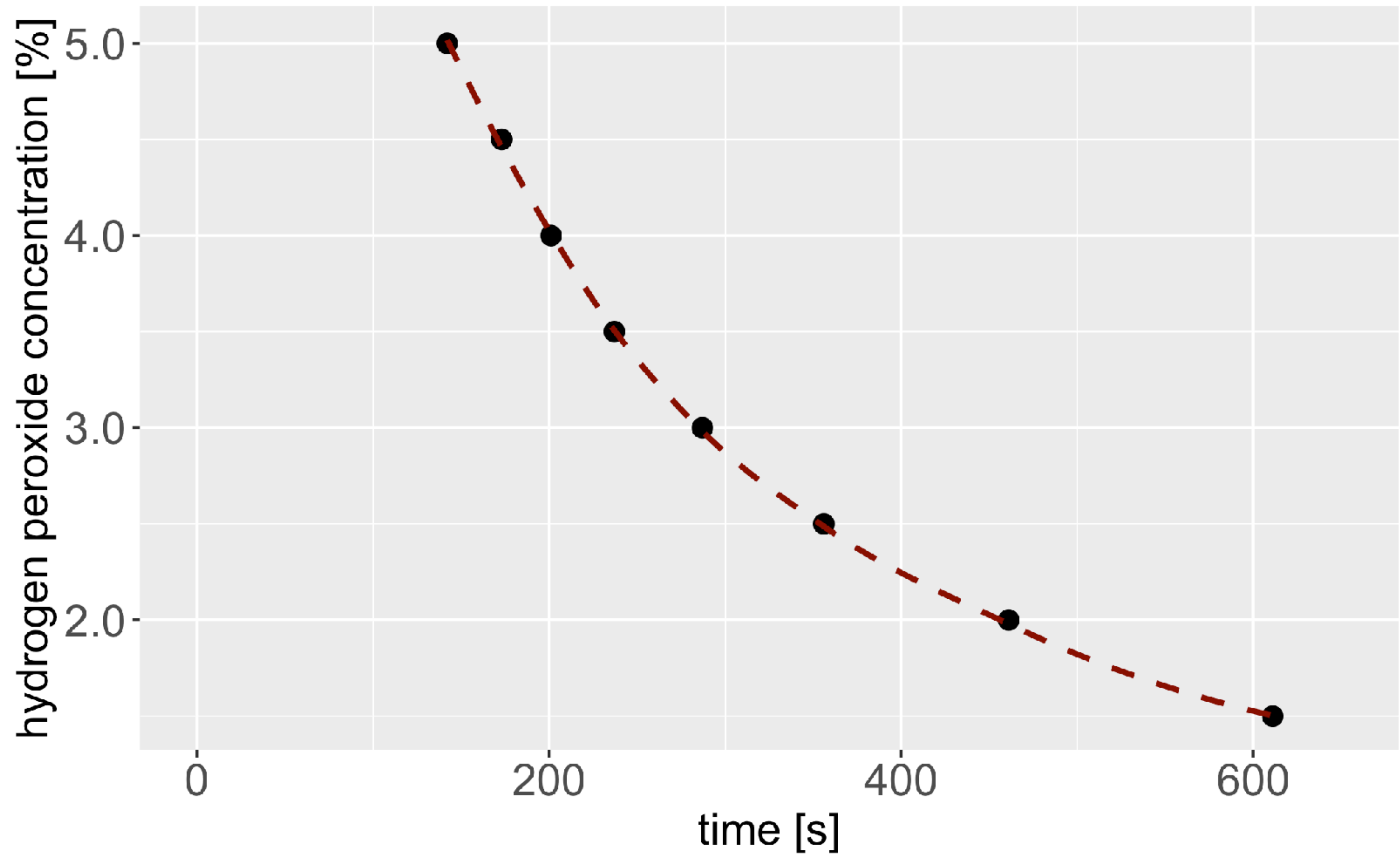
Catalase Assay by Iodine Clock Reaction – CAICR



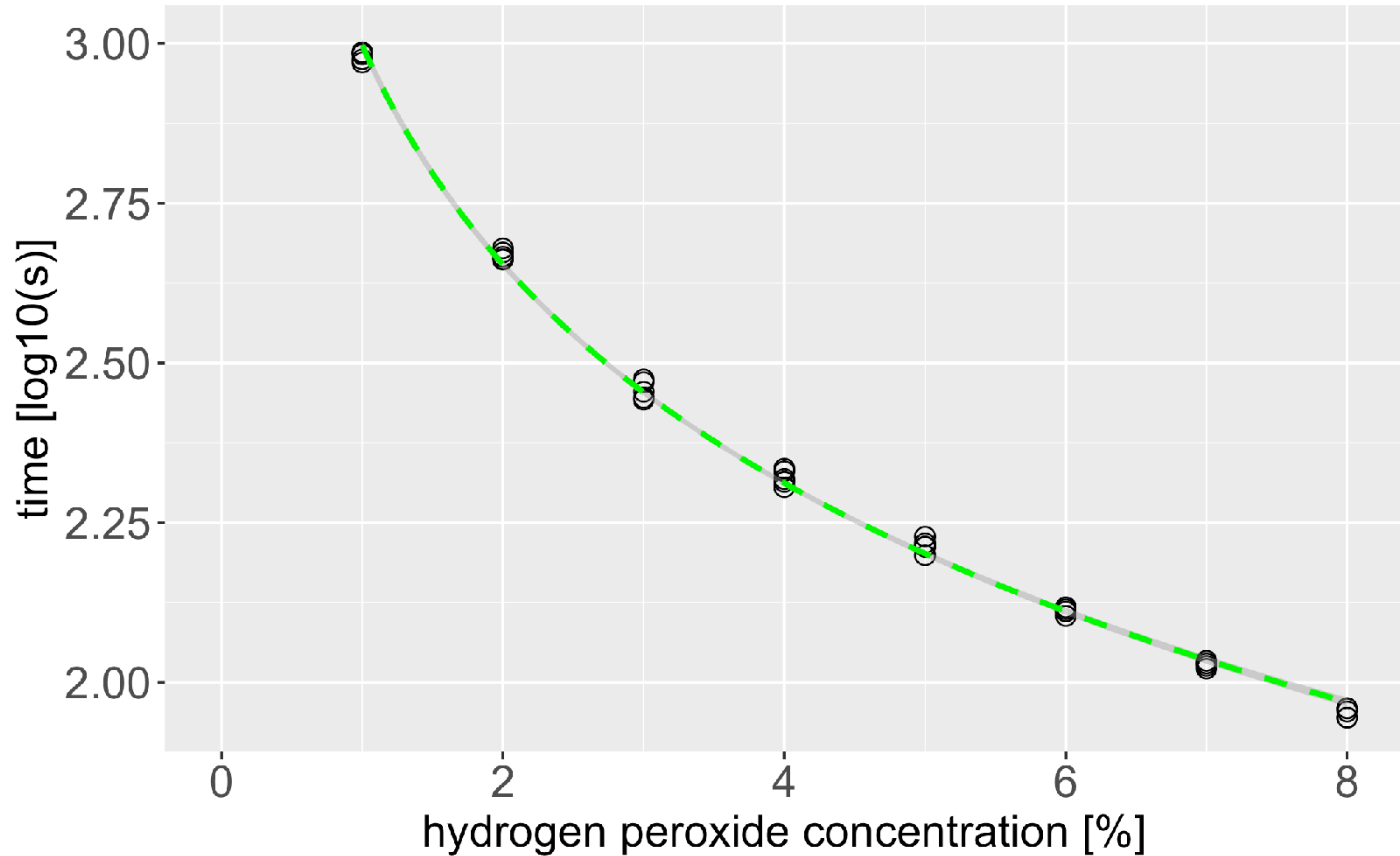
A więc?

- Duża aktywność katalazy
 - mało H_2O_2
 - mało I_2
 - długi czas reakcji barwnej I_2 ze skrobią (albo nawet zupełny brak reakcji barwnej)
- Mała aktywność katalazy
 - dużo H_2O_2
 - dużo I_2
 - krótki czas reakcji barwnej I_2 ze skrobią

Catalase Assay by Iodine Clock Reaction



Catalase Assay by Iodine Clock Reaction

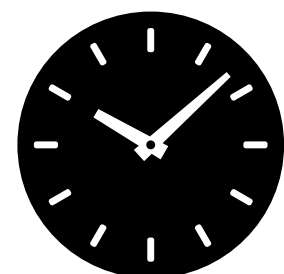


Przepis na CAICR

Odczynniki

	jodyna	kwask askorbinowy	zawiesina skrobiowa	woda	H ₂ O ₂ <u>30%</u>	katalaza
roztwór reakcji barwnej (roztwór B)	10 µl	80 µl	8 µl	80 µl		
roztwór reakcji enzymatycznej (roztwór E)					10,4 µl	69,6 µl

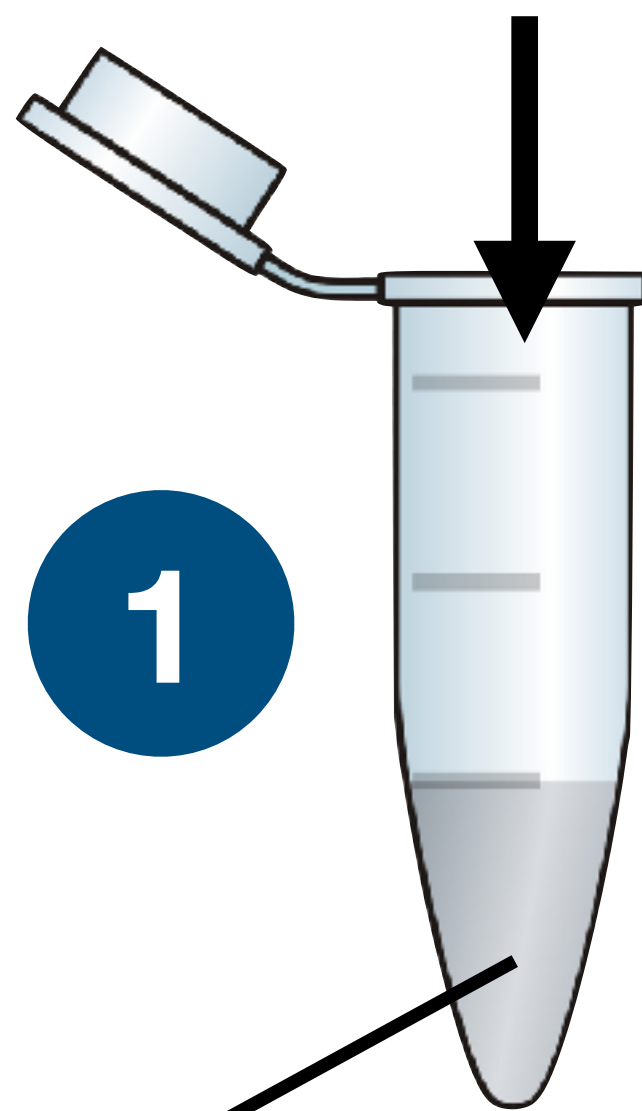
2



10 min. reakcji

H₂O₂ 30%

1



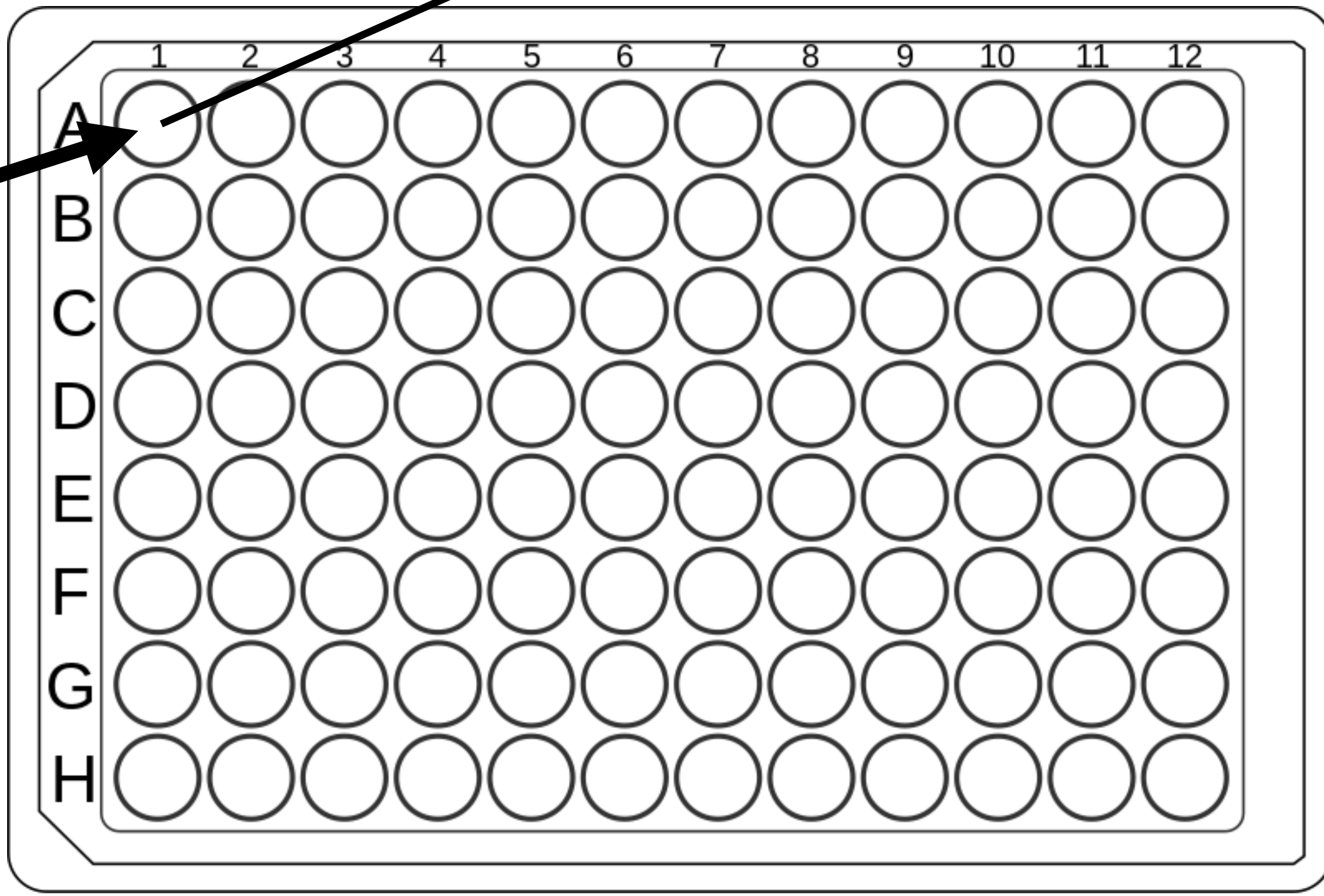
katalaza

80 μl

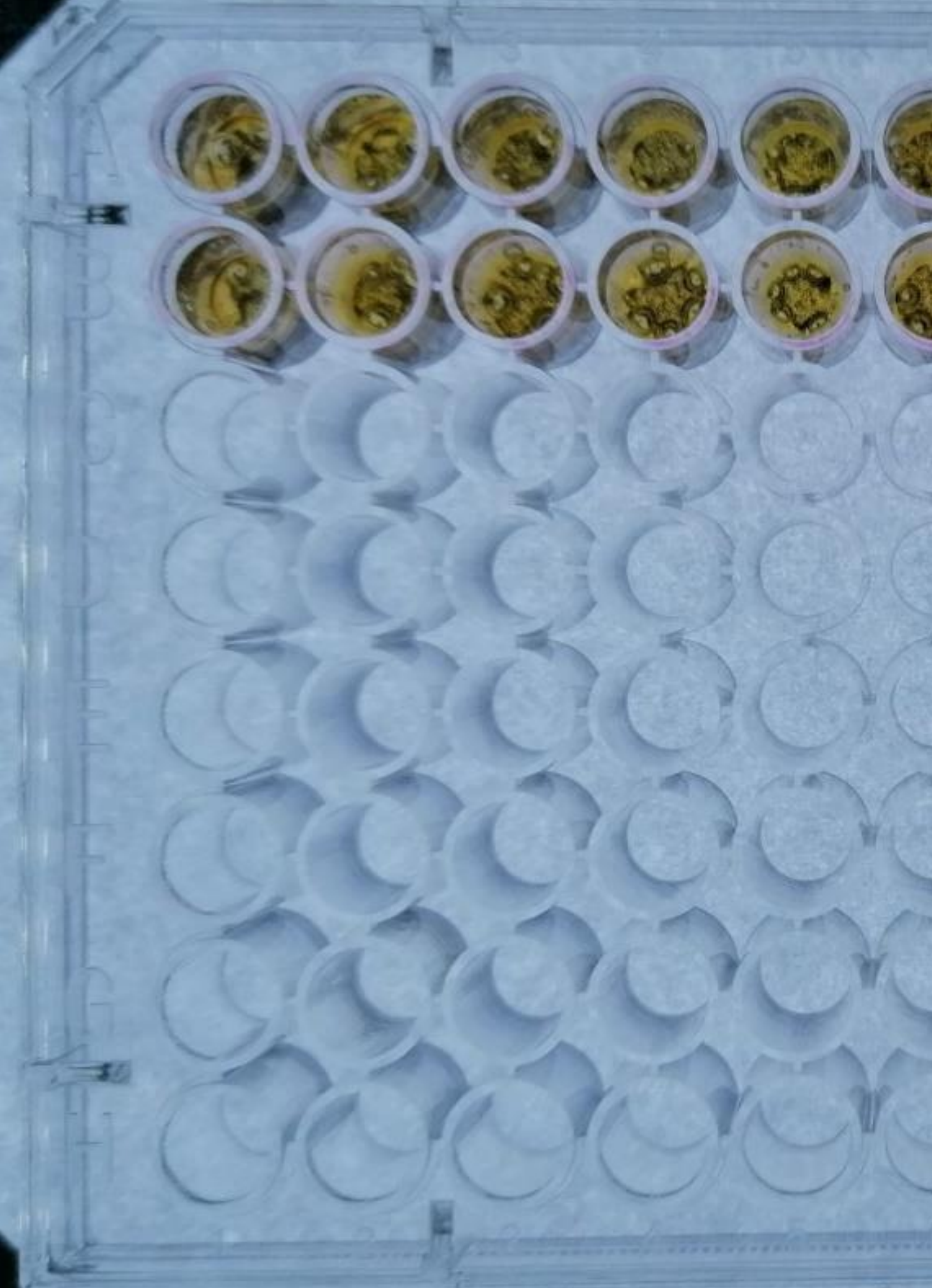
3

roztwór reakcji barwnej (roztwór B)

178 μl



**roztwór reakcji enzymatycznej
(roztwór E)**



Przepis na CAICR–WCIES: roztwór B

Odczynniki pipetujemy „insulinówką”

UWAGA! Podane objętości są na 5 prób!

	jodyna	kwaskaskorbinowy	zawiesinaskrobiowa	woda
roztwór reakcji barwnej (roztwór B)	0,28 ml	2,25 ml	0,23 ml	2,25 ml

Po wymieszaniu należy przenieść po 1 ml roztworu B do probówek chemicznych

Przepis na CAICR–WCIES: roztwór E

Odczynniki pipetujemy „insulinówką”

UWAGA! Przygotować pojedynczo dla każdej próby!

	H_2O_2 <u>30%</u>	katalaza	woda
roztwór reakcji enzymatycznej (roztwór E)	0,06 ml	0,39 ml	
<u>kontrolny</u> roztwór reakcji enzymatycznej (roztwór E _K)	0,06 ml		0,39 ml

Po upływie 10 minut całość (0,45 ml) przenieść do probówki z roztworem B i od tego momentu mierzyć czas do zajścia reakcji barwnej

Jednostka aktywności katalazy

Catalase International Unit (CIU)

1 CIU – rozłożenie 1 μmol H_2O_2 w ciągu 1 minuty w pH 7,0 w 25 °C

H_2O_2 – 34 g/mol, dlatego 30% $\text{H}_2\text{O}_2 \approx 8,8$ mol/l