

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА

Количественное определение глюкозы крови глюкозооксидазным методом.

Принцип метода. Глюкоза окисляется кислородом воздуха при каталитическом действии глюкозооксидазы (КФ 1.1.3.4; β-D-глюкозо-О₂-оксидоредуктаза) с образованием перекиси водорода и δ-глюконолактона. Образовавшуюся перекись водорода определяют по индофеноловой реакции аминантипирина с хромогеном, катализируемой пероксидазой (КФ 1.11.1.7; донор: перекись водорода-оксидоредуктаза). Количество образовавшегося красителя при соблюдении рабочих условий пропорционально содержанию глюкозы. Интенсивность окраски определяют на фотоэлектроколориметре.

Воспроизводимость методики: коэффициент вариации не более 5%.

Техника выполнения. Готовят три пробы: опытную, калибровочную и контрольную по следующей схеме:

	Опытная	Калибровочная	Контроль
Рабочий раствор (мл)	2,00	2,00	2,00
Инкубируют 5 мин при 37°C, после чего добавляют:			
Сыворотка крови (мл)	0,1	–	–
Калибровочный раствор (мл)	–	0,1	–
Дистиллированная вода (мл)	–	–	0,1

Содержимое пробирок встряхивают, инкубируют точно 30 мин при 37°C и фотометрируют против воды в кювете с длиной хода луча 1 см при 490 нм. Фотометрирование должно длиться не более 5 мин.

Расчет результатов. Содержание глюкозы (ммоль/л) в опытной пробе рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{оп}} = \frac{A_{\text{оп}}}{A_{\text{эт}}} \times C_{\text{эт}} = \frac{A_{\text{оп}}}{A_{\text{эт}}} \times 10,$$

где $C_{\text{оп}}$ – концентрация глюкозы в крови, мМ; $A_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытной пробы; $A_{\text{к}}$ – оптическая плотность калибровочной пробы, $C_{\text{эт}}=10$ ммоль/л.