**Vježba br 5. Spektrofotometrijsko određivanje aktivnosti gvajakol-peroksidaze (GPX)**

Aktivnost gvajakol-peroksidaze određivana je spektrofotometrijskommetodom po Zhang i sar. (2005).

**EKSTRAKCIJA**

1g biljnog mrerijala homogenizovati sa 5ml 0,02M KH2 PO4. Nakon homog. centrifugirati na 10000pm, 30min na 4°C. (na ledu)

**REAKCIONA SMJEŠA**

50ml 0,1M Na- fosfatnog pufera + 28µl guaiacola + 9µl H2O2 (30%)- pripremiti neposredno prije ocitavanja

**OČITAVANJE**

3ml (reakcione smjese)+ 200 µl (0,2ml) enzim ekstrakta .Pratiti povećavanje apsorbance u minutama (do 3min.)od 0,05-1 na 470nm.

**RAČUN:**

 **ENZIME**

 **Units/l = 3,18 x0,2x1000 = 240**

 **Activity 26,6 x 1x t x 0,1  t**

 Ekstikcioni koeficijent za guaiacol pri  470nm =26,6mmol­/l/cm

 (Hanfeng et al.,2010)

Priprema rastvora:

0,1M NaH2PO4 i 0,1M Na2HPO4 (1,2g NaH2PO4 +1,42g Na2HPO4 na 100ml vode)

 0,02M KH2 PO4 (0,27g na 100ml vode)