

- где C – содержание тирозина в опытной пробе, мэкв (среднее арифметическое из трёх определений);
- V – объём, в котором растворена субстанция, мл;
- a – навеска субстанции, мг.

Примечание. 1. Приготовление 22 % раствора гемоглобина. 2,2 г сухого гемоглобина растворяют в воде и доводят объём раствора водой до 10 мл.

2. Приготовление раствора субстрата. К 8,0 мл 1 М раствора натрия гидроксида прибавляют 72,0 мл воды, 36,0 г мочевины и 10,0 мл 22 % раствора гемоглобина. Смесь термостатируют в течение 45 ± 15 мин при 25°C , после чего к ней прибавляют раствор 4 г мочевины в 10 мл 1 М раствора калия дигидрофосфата. рН полученного раствора должен быть 7,5–8,0. Хранят при $5 \pm 3^\circ\text{C}$ не более 10 суток.

2. Амидазная активность. Не менее 6,0 микрокаталь/мг. Метод основан на определении количества *n*-нитроанилина, освобождаемого трипсином из синтетического субстрата – гидрохлорида N^α -бензоил-DL-аргинин-*n*-нитроанилида (БАПНА, CAS 911-77-3). Все растворы используются свежеприготовленными.

Субстанция имеет активность в 1 микрокаталь, если при её воздействии на субстрат БАПНА в течение одной секунды освобождается 1 микромоль *n*-нитроанилина.

Раствор *n*-нитроанилина. Около 50 мг (точная навеска) нитроанилина растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл в смеси 0,1 М трис-гидрохлорид буферный раствор рН 7,8—диметилсульфоксид—уксусной кислоты раствор 5 М 96:4:20.

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объём раствора той же смесью до метки. Получают раствор с концентрацией около 5 мкг/мл. При необходимости раствор дополнительно разбавляют так, чтобы оптическая плотность при длине волны 405 нм составляла $0,35 \pm 0,15$. Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 405 нм по сравнению со смесью 4,8 мл 0,1 М трис-гидрохлорид буферного раствора рН 7,8, 0,2 мл диметилсульфоксида и 1 мл уксусной кислоты раствора 5 М.