

多酚氧化酶（polyphenol oxidase, PPO）试剂盒说明书

(分光法 48 样)

一、产品简介：

多酚氧化酶(polyphenol oxidase, EC 1.10.3.1, PPO)又称酪氨酸酶、儿茶酚酶、酚酶等，是自然界中分布极广的一种含铜氧化酶，普遍存在于植物、真菌、昆虫的质体中。植物受到机械损伤和病菌侵染后，PPO 催化酚与 O₂ 氧化形成醌，使组织形成褐变，以便损伤恢复，防止或减少感染，提高抗病能力，与果蔬食品加工、储藏；茶叶品质和组培等密切相关。

多酚氧化酶 PPO 是一种含铜的氧化酶，能够催化邻苯二酚产生醌，后者在 420nm 有特征光吸收。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 40mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃避光保存

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、多酚氧化酶（PPO）的测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备

① 组织样本：

称取约 0.1g 组织（水充足的样本可取 0.5g），加入 1mL 提取液，进行冰浴匀浆，4℃×12000rpm，离心 15min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

2、上机检测

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 420nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂至室温（25℃）或 25℃水浴 10min，在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管
试剂一	510
试剂二	150
样本	150
混匀，立即在 420nm 处读取 A1 值，5min 后再读取 A2 值， $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】：1. 若 A2 值大于 1.5，可减少反应时间 T（如 5min 可减至 2min 后读取 A2）或减少样本加样量 V1（如减少至 20 μL ，则试剂一相应增加），改变后的反应时间 T 和加样量 V1 需代入公式重新计算。

2. 若 ΔA 小于 0.01，可增加样本量 V1（如增至 300 μL ，则试剂一相应减少），或可延长反应时间 T（如延长到 15min 后读取 A2），或增加取样质量 W（如由 0.1g 增至 0.2g），则

改变后的 V1 和 T 和 W 需代入公式重新计算。

4. 若上升趋势不稳定, 可全部加完稳定几分钟后再读取 A1, 选取一段线性增长范围读取 A2。
5. 若起始值大于 1.5 且 ΔA 小于 0.01, 请直接联系说明书下方技术支持。

五、结果计算:

1、按样本鲜重计算:

单位定义: 每分钟每克组织在反应体系中使 420nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活单位(U)。

$$PPO (\Delta OD_{420}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.005 \div T = 266.7 \times \Delta A \div W$$

2、按样本蛋白浓度计算:

单位定义: 每分钟每毫克组织蛋白在反应体系中使 420nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活单位(U)。

$$PPO (\Delta OD_{420}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times Cpr) \div 0.01 \div T = 266.7 \times \Delta A \div Cpr$$

3、按照液体体积计算:

单位定义: 每分钟每毫升液体在反应体系中使 420nm 处吸光值变化 0.01 为一个酶活单位(U)。

$$PPO (\Delta OD_{420}/\text{min} / \text{mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.01 \div T = 266.7 \times \Delta A$$

V---加入提取液体积, 1 mL;

V1---加入样本体积, 0.15mL;

T---反应时间, 5min;

W---样本质量, g;

Cpr---样本蛋白质浓度, mg/mL; 建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。