

## 多酚氧化酶（polyphenol oxidase, PPO）试剂盒说明书

(货号: G0113F 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 O<sub>2</sub> 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(水分充足的样本可取 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 在 1mL 玻璃比色皿中依次加入:

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】:**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 20μL,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。

### 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)。

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

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)。

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

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)。

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

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。