

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

(货号: G0113W 微板法 96 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 110mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	液体 5mL×1 瓶	4℃ 避光保存

### 三、需自备的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 420nm。

##### ② 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管
试剂一	170
试剂二	50
样本	50

混匀,立即在 420nm 处读取 A1 值,5min 后再读取 A2 值,  
 $\Delta A = A2 - A1$ 。

**【注】:**1. 试剂一和试剂二可以用排枪加。

2. 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 0.01 为一个酶活单位(U)。

$$PPO (\Delta OD_{420}/\text{min}/g \text{ 鲜重}) = \Delta A \div (W \times V1 \div V) \div 0.01 \div T = 400 \times \Delta A \div W$$

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)。

$$PPO (\Delta OD_{420}/\text{min}/\text{mg prot}) = \Delta A \div (V1 \times Cpr) \div 0.01 \div T = 400 \times \Delta A \div Cpr$$

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)。

$$PPO (\Delta OD_{420}/\text{min} / \text{mL}) = \Delta A \div V1 \div 0.01 \div T = 400 \times \Delta A$$

V----加入提取液体积，1 mL；

V1----加入样本体积，0.05mL；

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。