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 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、乙醇和蒸馏水。

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 果实样本（水分含量高的果实）：称取约 1g 果实组织样本，加入经预冷的 5mL 纯乙醇，冰浴匀浆（保证乙醇在整个匀浆液中体积 80%以上），低温（可放冰上或 4℃冰箱）放置 10min；12000rpm，4℃离心 5min；弃上清，留沉淀。再向沉淀中加入经预冷的 5mL 纯乙醇混匀，4℃放置 10min；12000rpm，4℃离心 5min；弃上清，留沉淀。最后向沉淀中加入 1mL 经预冷的提取液，涡旋混匀，12000rpm，4℃离心 10min；上清液置冰上待测。

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

③ 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，ΔA=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 20μL，则试剂一相应增加），改变后的 T 和 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 300μL，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。

3.若上升趋势不稳定，可全部加完稳定几分后再读取 A1，选取一段线性增长范围读取 A2。

4.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：

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(ΔOD_{420}/min/g 鲜重)=ΔA÷(W×V1÷V)÷0.005÷T=266.7×ΔA÷W

2、按样本蛋白浓度计算：

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 0.005 为一个酶活单位(U)。

PPO(ΔOD_{420}/min/mg prot)=ΔA÷(V1×Cpr)÷0.005÷T=266.7×ΔA÷Cpr

3、按照液体体积计算：

定义：每分钟每毫升液体在反应体系中使 420nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活单位(U)。

PPO(ΔOD_{420}/min /mL)=ΔA÷V1÷0.005÷T=266.7×ΔA

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。