

## 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 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,<br>$\Delta A = A2 - A1$ 。 |     |

【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 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。

2. 若  $\Delta A$  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。

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  $\Delta A$  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)。

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

### 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)。

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

### 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)。

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

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。