



多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒
Polyphenol Oxidase (PPO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒

Polyphenol Oxidase (PPO) Activity Assay Kit

一、产品描述

多酚氧化酶（PPO）又称酪氨酸酶、儿茶酚酶、酚酶，是一类广泛分布于动物、植物、微生物和培养细胞中的含铜质体金属酶，能够催化多酚类物质氧化为醌，进而引起植物叶片、果实等发生褐变，其活性对于果蔬加工、保藏及茶叶初加工等过程具有重要作用。

多酚氧化酶能够催化邻苯二酚生成醌，产物在 410 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征多酚氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	内含白色不溶组分，混匀后使用即可
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	4°C避光保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1.粗酶液的制备（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴匀浆，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按细菌或细胞数量（ 10^4 个）：提取液体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：按照液体样本（mL）：提取液体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议吸取 100 μ L 液体样本加入 900 μ L 提取液）处理样品，充分混匀，4°C 8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2.测定步骤

- ①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 410 nm，蒸馏水调零。
- ②灭活酶液的制备：取适量粗酶液 95℃处理 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。
- ③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)
试剂一	200	200
试剂二	50	50
粗酶液	50	-
灭活酶液	-	50

- ①37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）准确反应 10 min；
- ②立即 95℃处理 10 min（密封以防止水分散失）；
- ③冷却至室温后，10000 g 常温离心 10 min，取上清；

吸光值测定：吸取 200 μL 上清液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 410 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照管。

3.多酚氧化酶（PPO）活力计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.005 \times C_{\text{pr}} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{120 \times \Delta A}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.005 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{120 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10⁴ 个细菌或细胞每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.005 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{120 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟使反应体系吸光值变化 0.005 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.005 \times V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \times T} = 1200 \times \Delta A$$

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式

①按组织蛋白浓度计算

单位定义：每 mg 组织蛋白每分钟使反应体系吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/mg prot)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}}}{0.01 \times \text{Cpr} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{60 \times \Delta A}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

单位定义：每 g 组织每分钟使反应体系吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/g)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.01 \times W \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{60 \times \Delta A}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

单位定义：每 10^4 个细菌或细胞每分钟使反应体系吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/10}^4 \text{ cell)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.01 \times \text{细菌或细胞数量} \times V_{\text{样}} \times T} = \frac{60 \times \Delta A}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

单位定义：每 mL 液体样本每分钟使反应体系吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/mL)} = \frac{\Delta A \times V_{\text{反总}} \times V_{\text{样总}}}{0.01 \times V_{\text{液}} \times V_{\text{样}} \times T} = 600 \times \Delta A$$

注释： V 反总：反应体系总体积，0.3 mL；V 样：反应体系中加入粗酶液的体积，0.05 mL；V 样总：粗酶液总体积，1 mL；V 液：提取过程中加入液体样本的体积，0.1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量，以万计；T：反应时间，10 min。

四、注意事项

- ①不同样本的多酚氧化酶最佳的反应温度略有差别，反应温度可在 25-37°C 之间进行调整；
- ②为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

