

植物多酚氧化酶（PPO）检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PMHA5-C24	多酚氧化酶(PPO)试剂盒	24T	常量法
PMHA5-C48		48T	常量法

一、测定意义

多酚氧化酶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，多酚氧化酶催化酚形成醌，使组织形成褐变，与食品加工与保藏工艺具有非常重要的意义。

二、测定原理

多酚氧化酶催化邻苯二酚氧化生成有色物质，其在波长410nm处有吸收峰，测定吸光值的变化可计算出多酚氧化酶活性。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
提取液	液体 30 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存
注： 提取液内含不溶物，使用时需充分混匀呈悬浊液。			
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	液体 60 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂 ×2 瓶	粉剂 ×3 瓶	4℃避光保存
试剂二的配制： 取粉剂一瓶加入 5mL 双蒸水，混匀，使其完全溶解			

四、操作步骤

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清液置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 410nm，用蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表：

试剂	对照管	测定管
样本（ μ l）	-	150
煮沸的样本（ μ l）	150	-
试剂一（ μ l）	600	600

试剂二 (μl)	150	150
混匀, 30°C准确反应 10min 后, 迅速放入沸水中加热 5min		
流水冷却, 5000 转/min, 常温离心 10min, 取上清液, 于波长 410nm 处记录测定管吸光度值 A1 和对照管吸光度值 A2, $\Delta A=A1-A2$		

五、植物样本中多酚氧化酶活性计算

(1) 按样本鲜重计算:

单位定义: 每分钟每 g 组织在每 ml 反应体系中使在 410nm 处吸光度值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/g 鲜重)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T$$

(2) 按蛋白浓度计算:

单位定义: 每分钟每 mg 组织蛋白在每 ml 反应体系中使在 410nm 处吸光度值变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{PPO (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T$$

$V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.9mL;

$V_{\text{样}}$: 加入样本体积, 0.15mL;

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1 mL;

T : 反应时间, 10 min;

C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W : 样本质量 g;

六、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。