

## 多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AMHA5-C24	多酚氧化酶(PPO)活性检测试剂盒	24T	常量法
AMHA5-C48		48T	

### 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 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃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 30mL×1 瓶	液体 60mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×2 瓶	粉剂 ×3 瓶	2-8℃避光保存
试剂二的配制：取粉剂一瓶加入 6mL 双蒸水，混匀，使其完全溶解。			

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液(mL)为 1:10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量(10<sup>4</sup> 个):试剂一体积(mL)为 500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 200W，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 5min）；然后 10000g，4℃离心10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

### 测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 410nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂回复至常温；
- 3、操作表（在离心管中加入以下试剂）

试剂名称	对照管	测定管
样本（μL）	-	150
煮沸的样本（μL）	150	-
试剂一（μL）	600	600
试剂二（μL）	150	150
混匀，30℃准确反应 10min 后，迅速沸水浴 5min，流水冷却，5000 转/min，常温离心 10min，取上清液至玻璃比色皿中，于波长 410nm 处记录测定管吸光度值，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$		

### 五、多酚氧化酶(PPO)活性计算：

#### 1、血清样本PPO计算

**单位定义：**每毫升样本在每毫升反应体系中每分钟 A410 变化0.01 为一个酶活力单位。

**计算公式：**
$$\text{PPO (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反应总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 60 \times \Delta A \div W$$

#### 2、组织、细胞样本PPO计算

##### (1)按样本蛋白浓度计算

**单位定义：**每毫克组织蛋白在每毫升反应体系中每分钟 A410 变化 0.01为一个酶活力单位。

**计算公式：**
$$\text{PPO (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反应总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.01 \div T = 60 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$$

##### (2)按样本鲜重计算

**单位定义：**每克组织在每毫升反应体系中每分钟 A410 变化 0.01 为一个酶活力单位。

**计算公式：**
$$\text{PPO (U/g)} = \Delta A \times V_{\text{反应总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T = 60 \times \Delta A \div W$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

**单位定义：**每 $10^4$ 细胞在每毫升反应体系中每分钟 A410 变化 0.01  
为一个酶活力单位。

**计算公式：**
$$\text{PPO (U/10}^4\text{ cell)} = \Delta A \times V_{\text{反应}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T$$
$$= 0.12 \times \Delta A \div W$$

$V_{\text{反应}}$ ：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，10min；Cpr：样本蛋白质浓  
度，mg/mL；500：细胞/细菌数，500万；W：样本重量，g。

## 六、注意事项：

- 1、样本测试前请选取2个预期差异最大的样本，稀释成不同浓度进行预试，以选取最佳取样浓度；
- 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。

## 【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

## 【售后微信】



## 【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日