

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(10^4 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： $PPO \text{ (U/mL)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div V_{\text{样}} \div 0.01 \div T = 60 \times \Delta A \div W$

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： $PPO \text{ (U/mg prot)} = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div 0.01 \div T = 60 \times \Delta A \div C_{\text{pr}}$

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

(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： $PPO (U/10^4 \text{ cell}) = \Delta A \times V_{\text{反总}} \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.01 \div T$

$$= 0.12 \times \Delta A \div W$$

$V_{\text{反总}}$: 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