Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 400-968-6088
Fax: 010-56371281/82
Http://www.solarbio.com

多酚氧化酶检测试剂盒说明书

分光光度法

货号：BC0190
规格: 50 管/24 样

产品简介：

PPO 主要存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是一种含铜的氧化酶，能使一元酚和二元酚氧化产生醌，从而引起褐化，与果蔬加工、茶叶品质和组培等密切相关。

PPO 能够催化邻苯二酚产生醌，后者在 410nm 有特征光吸收。

试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

产品内容：

提取液：液体，60ml×1 瓶，4℃保存，用前混匀；
试剂一：液体，40ml×1 瓶，4℃保存；
试剂二：液体，10ml×1 瓶，4℃保存；

操作步骤：

一、粗酶液提取：

1. 收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每 200 万细菌或细胞加入 400μl 提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率 20%，超声 3 秒，间隔 10 秒，重复 30 次）；8000g 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。
2. 称取约 0.2g 组织，加入 1ml 提取液进行冰浴匀浆。8000g 4℃离心 10 分钟，取上清，置冰上待测。

二、测定操作表：

试剂名称（μl）	测定管	对照管
试剂一	600	600
试剂二	150	150
样本	150	
煮沸的样本		150
37℃(哺乳动物)或 25℃（其它物种）中准确水浴 10min 后，迅速放入沸水中加热 10min		

冷却后，5000g，常温离心 10min，收集上清，用蒸馏水调零，410nm 处检测测定管和对照管吸光度。

注意:每个测定管需要设置一个对照管,可以在不同对照管中加入不同样品的粗酶液,然后集中进行 1min 沸水浴处理

PPO 活性计算：

1、组织中 PPO 活力的计算:

（1）按样本蛋白浓度计算：

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

PPO（U/mg prot）= V 反总×V 样总÷V 样÷T÷0.01×（A 测定-A 对照）÷Cpr=60×（A 测定-A 对照）÷Cpr

（2）按样本鲜重计算：

单位的定义：每分钟每 g 组织蛋白在每 ml 反应体系中使 410nm 处吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

PPO（U/g 鲜重）= V 反总×V 样总÷V 样÷T÷0.01×（A 测定-A 对照）÷W=60×（A 测定-A 对照）÷W

2、细菌或培养细胞中 PPO 活力的计算:

（1）按样本蛋白浓度计算：

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

PPO（U/mg prot）= V 反总×V 样总÷V 样÷T÷0.01×（A 测定-A 对照）÷Cpr=60×（A 测定-A 对照）÷Cpr

（2）按细菌或细胞密度计算：

单位的定义：每分钟每 1 万个细菌或细胞在每 ml 反应体系中使 410nm 处吸光值变化 0.01 定义为一个酶活力单位。

PPO（U/10^4 cell）= V 反总×V 样总÷V 样÷T÷0.01×（A 测定-A 对照）÷细菌或细胞密度（10^4/mL）=60×（A 测定-A 对照）÷细菌或细胞密度（10^4/mL）=60×（A 测定-A 对照）÷细菌或细胞密度（10^4/mL）

V 反总：反应体系总体积，0.9mL；V 样：加入反应体系中样本体积，0.15 mL；V 样总：加入提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，0.2g.

注意事项：不同样本的多酚氧化酶最佳的反应温度略有差别，可在 25-37℃之间进行调节。