

CheKine™ 植物多酚氧化酶（PPO）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB1140

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本：植物组织
	保质期：4℃，避光保存 12 个月

01 背景与原理

多酚氧化酶（Polyphenol Oxidase, PPO, EC1.10.3.1）普遍存在于植物、真菌、昆虫的质体中，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。

本试剂盒检测原理是样本中的多酚氧化酶（PPO）能够催化邻苯二酚产生醌，后者在 410 nm 有特征光吸收，测定 410 nm 光吸收增加的速率，计算多酚氧化酶（PPO）活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Extraction Buffer	60 mL	120 mL	4℃
Reagent I	24 mL	48 mL	4℃
Reagent II	6 mL	12 mL	4℃，避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 410 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明版
其他	匀浆器（组织样本）、恒温箱、冰盒、低温离心机、 可调式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 不同样本的 PPO 最佳的反应温度略有差别，可在 25-37℃ 之间进行调节。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 保存
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 保存
Reagent II	即用型；使用前平衡到室温	4℃ 避光保存。有一定毒性，注意防护

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- 粗酶液制备：称取约 0.1 g 植物组织样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 g，4℃ 离心 10 min，取上清液置冰上待测。
- 煮沸样本：取适量粗酶液沸水浴 5 min（密封以防止水分散失），冷却至室温。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 410 nm。
2. 检测体系配制：在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作，每个测定管均需设置一个对照管。

试剂	对照管 (μL)	测定管 (μL)
煮沸样本	50	0
样本	0	50
Reagent I	200	200
Reagent II	50	50

3. 充分混匀，25℃水浴 10 min 后，迅速沸水浴 10 min。混匀后，5000 g，25℃离心 10 min。
4. 吸光度检测：取上清 200 μL 于 96 孔板中，410 nm 处测定吸光值，分别标记为 $A_{\text{对照}}$ 和 $A_{\text{测定}}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn)进入“技术中心”查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

2. 样本 PPO 活性计算

● 按样本质量计算

单位定义：每分钟每 g 组织在每 mL 反应体系中使 410 nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

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

● 按蛋白浓度数量计算

单位定义：每分钟每 mg 组织蛋白在每 mL 反应体系中使 410 nm 处吸光值变化 0.005 为一个酶活力单位。

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

$V_{\text{反总}}$ ：反应体系总体积，0.3 mL； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.05 mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入 Extraction Buffer 体积，1 mL；
T：反应时间，10 min；W：样本质量，g；Cpr：蛋白浓度 (mg/mL)。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 蓝莓，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.349 - 0.261 = 0.088$ 。

按样本质量计算得：PPO (U/g) = $\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div 0.005 \div T = 120 \times \Delta A \div W = 105.6 \text{ U/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办？

如果样本 $A_{\text{测定}} > 1$ ，则说明样本 PPO 活性太高，需用 Extraction Buffer 适当稀释后重新测定或减少提取用样本量。如果样本的 $A_{\text{测定}} < 0.02$ ，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB1030	CheKine™超氧化物歧化酶（SOD）活性检测试剂盒（微量法）
KTB1040	CheKine™过氧化氢酶（CAT）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 植物多酚氧化酶（PPO）活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB1140)

样本处理

体系配置

数据检测

