

土壤多酚氧化酶（S-PPO）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0115

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存

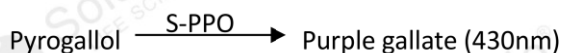
溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前取 1 瓶加入 7 mL 蒸馏水，充分溶解，用不完的试剂 2-8℃保存 2 周。
- 2、标准品：重铬酸钾溶液（5 mmol/L），相当于 0.2 mg/mL 紫色没食子素溶液。

产品说明：

S-PPO（Soil Polyphenol Oxidase, S-PPO）主要来源于土壤微生物、植物根系分泌物及动植物残体分解释放，催化土壤中芳香族化合物氧化成醌，醌与土壤中蛋白质、氨基酸、糖类、矿物等物质反应生成有机质和色素，完成土壤芳香族化合物循环，用于土壤环境修复。

S-PPO 能够催化邻苯三酚产生紫色没食子素，后者在 430nm 有特征光吸收。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、30~50 目筛、0.5mol/L HCl 溶液、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

1、可见分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 430nm，可见分光光度计需蒸馏水调零。

2、标准品稀释：用 0.5mol/L HCl 溶液将标准品稀释至 0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0 mg/mL。

3、标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准品体积 (μL)	0.5mol/L HCl 体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	0.2	500	500	0.1
2	0.1	500	500	0.05





3	0.05	500	500	0.025
4	0.025	500	500	0.0125
5	0.0125	500	500	0.00625
6	0.00625	500	500	0.003125
7	-	0	500	0

备注：实验中每个标准管需 200 μ L 标准品。

4、标准曲线的建立：以 0 mg/mL 的标准品为空白管，取 200 μ L 稀释好的标准品（0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125 mg/mL）于微量玻璃比色皿/96 孔板中在 430nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 标准、A 空白， ΔA 标准=A 标准-A 空白。标准曲线只需做 1-2 次。

5、样本测定：（在 1.5mLEP 管中依次加入以下试剂）

试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.04	0.04
试剂一（ μ L）	100	100
试剂二（ μ L）	240	-
蒸馏水（ μ L）		240

充分振荡混匀，30 $^{\circ}$ C 反应 1h，4 $^{\circ}$ C，5000g 离心 10min 后，取 200 μ L 上清液于微量玻璃比色皿/96 孔板中，430nm 处测定吸光值 A，分别记为 A 测定、A 对照， ΔA 测定=A 测定-A 对照。（每个测定管需设一个对照管）。

三、S-PPO 活性计算

1.标准曲线的建立：

根据标准管的浓度（x，mg/mL）和吸光度 ΔA 标准（y， ΔA 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定（y， ΔA 测定）带入公式计算样本浓度（x，mg/mL）。

2.S-PPO 活性计算：

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1mg 紫色没食子素定义为一个酶活性单位。

S-PPO 活性（U/g 土样）= $x \times V \div W \div T = 8.16 \times x \div W$

T：反应时间，1h=1/24d；V 反：反应液总体积，0.34mL；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 当样本 ΔA 测定>1.2 时，可降低样本质量后进行测定；样本 ΔA <0.01 时，可提高样本质量或延长反应时间后进行测定，注意同步修改计算公式。
2. 若样本量过多，建议分批次进行测定；反应后的上清液置于冰上待测，尽量在 10min 内测完，防止测定结果受氧化影响。

实验实例：

- 1、称取 0.04g 冬青土，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得 ΔA 测定=A 测定-A 对照=0.431-0.134=0.297，带入标曲 $y=5.8385x-0.0164$ ， $R^2=0.9997$ ，计算 $x=0.054$ ，计算 S-PPO 活性得：
S-PPO 活性（U/g 土样）= $8.16 \times x \div W = 11.016$ U/g 土样。

参考文献：



[1] Montgomery M W, Sgarbieri V C. Isoenzymes of banana polyphenol oxidase[J]. Phytochemistry, 1975, 14(5-6): 1245-1249.

[2] Dogan S, Dogan M. Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from Thymus (Thymus longicaulis subsp. chaubardii var. chaubardii)[J]. Food chemistry, 2004, 88(1): 69-77.

相关系列产品:

- BC0100/BC0105 土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 活性检测试剂盒
- BC0120/BC0125 土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒
- BC0890/BC0895 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒
- BC5130/BC5135 土壤超氧化物歧化酶 (S-SOD) 活性检测试剂盒
- BC5120/BC5125 土壤丙二醛 (S-MDA) 含量检测试剂盒

