

土壤多酚氧化酶（Solid-Polyphenol oxidase, S-PPO）试剂盒说明书

微量法 100管/96样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

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。

测定原理：

S-PPO能够催化邻苯三酚产生有色物质，后者在430nm有特征光吸收。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、乙醚50mL（不允许快递）和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：粉剂×2瓶，4℃保存；临用前取一瓶，加入7mL蒸馏水充分溶解后待用；用不完的试剂4℃保存一周。

试剂二：液体6mL×1瓶，4℃保存；

试剂三：乙醚50mL×1瓶，4℃保存；（自备）

样品处理：

新鲜土样自然风干或37度烘箱风干，过30~50目筛。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至430nm，蒸馏水调零。
2. 加样表

试剂名称	测定管
风干土样（g）	0.02
试剂一（ μL ）	120

振荡混匀，30℃恒温培养1 h

试剂二（ μL ）	50
试剂三（ μL ）	430

振荡数次，室温静置30min，取200 μL 上层液于430nm处测定吸光值A。

（注意：1、因乙醚粘度小，易掉液，吸取前需先将枪头在上层液里润洗2~3次，再转移测定；2、乙醚易挥发，转移到96孔板后立即测定，最好一个一个测定）。

S-PPO活力计算

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 8.97x - 0.003$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值A。

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力单位。

S-PPO活力（mg /d/g 土样） $= (A+0.003) \div 8.97 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 80 \times (A+0.003)$

T：反应时间，1h=1/24d； V反总：反应体系总体积0.6mL； W：样本质量，0.02g。

b.用96孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 4.485x - 0.003$ ；x为标准品浓度（mg/mL），y为吸光值A。

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力单位。

S-PPO活力（mg/d/g 土样） $= (A+0.003) \div 4.485 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 160 \times (A+0.003)$

T：反应时间，1h=1/24d； V反总：反应体系总体积0.6mL； W：样本质量，0.02g。

www.affandi-e.com