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

(货号：ADS-F-TR002　分光法 48 样　有效期：6 个月)

## 一、指标介绍：

土壤多酚氧化酶(Polyphenoloxidase，简称 PPO)是一类以铜、锰为活性中心的氧化还原酶，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的酶，能把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大小分子量不等有机质和色素，完成土壤芳香族化合物循环，也可用于土壤环境修复。

土壤多酚氧化酶能够催化底物左旋多巴产生红色的醌类物质，依据文献选择该有色产物在 475nm 做为特征光吸收波长，通过测定进而计算得出土壤多酚氧化酶活性大小。

## 二、试剂盒组分与配制：

| 试剂组分 | 试剂规格 | 存放温度 | 注意事项 |
|---|---|---|---|
| 试剂一 | 液体 110mL×1 瓶 | 4℃保存 | |
| 试剂二 | 粉体 2 瓶 | 4℃保存 | 每瓶：<br>1. 开盖前注意使粉体落入底部（可手动甩一甩）；<br>2. 加入 25mL 试剂一，超声溶解，溶解后的试剂三天内用完。 |

## 三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

## 四、指标测定：

**建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！**

### 1、样本提取：

取新鲜土样或风干土壤，先粗研磨，过 40 目筛网，待测备用。

### 2、检测步骤：

① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 475nm，蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入：

| 试剂组分（μL） | 测定管 | 对照管 |
|---|---|---|
| 土样（g） | 0.1 | 0.1 |
| 试剂一 | 200 | 1000 |
| 试剂二 | 800 | |
| 振荡混匀，25℃水浴（间隔 10min 振荡混匀几下）或者恒温振荡培养箱振荡孵育 1 h | | |
| 孵育结束后立即于 4℃（需低温）12000rpm 离心 5min，取 700μL 上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 475nm 处读取吸光值 A，△A=A 测定管-A 对照管（每个样本需做一个自身对照）。 | | |

【注】：1. 若 A 测定大于 1.8，可用蒸馏水对离心后待检测的上清液进行稀释，则稀释倍数 D 需代入公式重新计算。

2. 若△A 值小于 0.01，可延长 25℃的孵育时间 T（如由 1h 可增加至 4h），则改变后的 T 需代入公式重新计算。

## 五、结果计算：

1、单位定义：每小时每克土壤中产生 1nmol 红色产物定义为一个酶活力单位。

S-PPO 活力(nmol/h/g 土样)=[ΔA÷(ε×d)×V1×$10^9$]÷W÷T×D=270.3×△A÷W×D

ε---红色产物摩尔吸光系数，3.7×$10^3$ L/mol/cm；　　T---反应时间，1h；

V1---反应总体积，1000μL=1mL=1×$10^{-3}$ L；　　d---光径，1cm；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；　　W---土壤样本实际取样量，g。