

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

注 意：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 200μL 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。
