

土壤多酚氧化酶（S-PPO）检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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。

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

3、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。

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

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。

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

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。