

Soil-Polyphenol oxidase (S-PPO) Activity Assay Kit

土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 试剂盒说明书

货号: G0311W48 | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

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:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×2 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 每瓶加入 25mL 试剂一, 超声溶解, 溶解后的试剂三天内用完。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、低温离心机、水浴锅/恒温振荡培养箱、可调式移液器。

四、土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样或风干土壤, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 待测备用。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 475nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (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 200μL 上清液于 96 孔板中, 于 475nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个样本需做一个自身对照)。		

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调; 针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

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)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V1 \times 10^9$] $\div W \div T \times D = 540.5 \times \Delta A \div W \times D$

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， $1000\mu\text{L} = 1\text{mL} = 1 \times 10^{-3}$ L；

d---光径，0.5cm；

D---稀释倍数，未稀释即为 1；

W---土壤样本实际取样量，g。