



土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒
Soil Polyphenol Oxidase (S-PPO) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒

Soil Polyphenol Oxidase (S-PPO) Activity Assay Kit

一、产品描述

土壤多酚氧化酶 (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, 能够催化土壤中芳香族化合物氧化成醌, 醌类物质能够与土壤中蛋白质、氨基酸和糖类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, 对土壤环境修复具有重要意义。

土壤多酚氧化酶能够催化邻苯三酚生成紫色没食子素, 产物在 430 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征土壤多酚氧化酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	粉剂×3 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 5 mL 蒸馏水充分混匀 (配制后 4°C可保存 1 周)
试剂二	液体 12 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
标准液	液体 1.5 mL×1 支	4°C避光保存	25 mmol/L 重铬酸钾标准液 (相当于 1.0 mg/mL 紫色没食子素溶液)
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 1.0 mg/mL 紫色没食子素标准液使用试剂三稀释至 0.25、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/mL 即为标准稀释液。			

需自备试剂: 乙醚 (C₄H₁₀O, MW=74.12, CAS: 60-29-7)

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 (mg/mL)	1.0	1.0	0.2	0.1	0.05	0.025
标准液体积 (μL)	250	200	500	500	500	500
试剂三体积 (μL)	750	800	500	500	500	500
稀释后浓度 (mg/mL)	0.25	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、96 孔板（非聚苯乙烯材质）、可调式移液器、烘箱、30-50 目筛、恒温水浴/培养箱、乙醚和蒸馏水。

1. 土壤样本的预处理

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干，过 30-50 目筛。

2. 测定步骤

① 酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 430 nm。

② 在离心管中依次加入下列试剂（可根据预实验结果适当调整样本量）：

试剂	测定组 (μL)	对照组 (μL)
风干土样 (mg)	20	20
试剂一	120	-
蒸馏水	-	120
充分振荡混匀，30°C 准确反应 1 h		
试剂二	50	50
乙醚	430	430
充分振荡混匀，室温萃取 30 min		

吸光值测定：吸取 200 μL 上层溶液至 96 孔板中，测定 430 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照；计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。注：每个样品均需设一个对照组。

标准曲线的建立：① 吸取 200 μL 标准稀释液至 96 孔板中，测定 430 nm 处吸光值，记为 A 标准；② 以 0.25、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125 mg/mL 为横坐标 (x)，以其对应的 A 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 带入公式中计算 x (mg/mL)。

3. 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性计算

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1 mg 紫色没食子素定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-PPO (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{萃取}}}{W \times T} = 516 \times x$$

注释： V 萃取：乙醚萃取相体积，0.43 mL；W：土壤样本质量，20 mg=0.02 g；T：反应时间，1 h=1/24 d。

四、注意事项

① 乙醚粘度小易掉液，吸取上层溶液前需将枪头在上层溶液中缓慢润洗 1-2 次后再进行移液；乙醚易挥发，将上层溶液加入 96 孔板中后应立即测定吸光值，建议单样检测；

② 若 A 测定或 ΔA 超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将上层溶液使用乙醚适当稀释后再进行测定；低于最低值建议适当延长酶促反应时间或增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

③ 为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

