

# 土壤多酚氧化酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHA7-C24	土壤多酚氧化酶(S-PPO)试剂盒	24T	常量法
SMHA7-C48		48T	

## 一、测定意义：

土壤多酚氧化酶主要来源于土壤微生物、植物根性分泌物及动植物残体分解释放的酶，它是一种复合性酶。土壤多酚氧化酶能吧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。

## 二、测定原理：

以邻苯三酚为底物，经土壤多酚氧化酶催化底物产生紫色没食子素，在 430nm 处有特征吸收峰，通过比色法测定吸光值来计算多酚氧化酶的活性。

## 三、试剂盒组成：

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
乙醚	自备	自备	常温
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存
<b>试剂一应用液</b> 配制：每瓶粉剂加入蒸馏水 15mL，充分溶解。			
试剂二	15mL×1 瓶	25mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品 (0.1mg/mL)	10mL×1 瓶	10mL×瓶	2-8℃ 保存
标准品稀释液	10mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃ 保存

## 四、操作步骤：

### 一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

### 二、操作步骤

#### 1、培养反应：

	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μL)	500	-
蒸馏水 (μL)	-	500
混匀，30℃反应 3h		
试剂二 (μL)	200	200

乙醚 (μL)	2000	2000
---------	------	------

充分混匀，室温静置 30min，取上清液于波长 430nm，1cm 光径，乙醇调零，测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

## 五、单位定义与计算：

**单位定义：**每天每克风干土壤中产生 1mg 紫色没食子素为一个酶活力单位

**计算公式：**根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (mg/mL)

$$\text{测定管含量 (U/g)} = Y_{\text{测定管}} \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

$$\text{对照管含量 (U/g)} = Y_{\text{对照管}} \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

$$\text{S-PPO(U/g 土样)} = \text{测定管含量} - \text{对照管含量}$$

**T：**反应时间，1/12d；

**V<sub>提取</sub>：**提取液体积，2mL；

**W：**样本质量，0.1g。

**计算举例：**取土样 0.1g 实验，测得测定管吸光度为 0.165，对照管吸光度为 0.025，按计算公式计算得：

根据附录 I 标准曲线，得到  $Y_{\text{测定管}} = 0.021\text{mg/mL}$ ， $Y_{\text{对照管}} = 0.003\text{mg/mL}$

$$\text{S-PPO(U/g 土样)} = 0.021 \times 2 \div 0.1 \div 1/12 - 0.003 \times 2 \div 0.1 \div 1/12 = 4.44 \text{ (U/g)}$$

## 六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定，主要尽量避光。
- 2、不同土壤样本的多酚氧化酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量。
- 3、乙醚易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

## 附录 I：标准曲线的制备

### 1、前处理：

将0.1mg/mL的标准品用标准品稀释液稀释成0、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1mg/mL。

蒸馏水调零，430nm 波长测定各浓度吸光度值。

### 2、测定结果：

标准品浓度 (mg/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.001	0.000
0.01	0.078	0.077
0.02	0.155	0.154
0.04	0.311	0.310
0.06	0.462	0.461
0.08	0.621	0.620

