

土壤多酚氧化酶(PPO)活性检测试剂盒

Soil Polyphenoloxidase Assay Kit

可见分光光度法

货号: AK164

规格: 50T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK164-A	粉剂×2 瓶	4℃保存;临用前加入 15mL 蒸馏水, 用不完的试剂 4℃保存 2 周
AK164-B	10mL×1 瓶	4℃保存
AK164-C	100mL 乙醚(自备)	4℃保存
AK164-标准品	10mL×1 瓶(0.2 mg/mL)	4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase, PPO) 是自然界中分布极广的一种金属蛋白酶, 普遍存在于植物、真菌、昆虫的质体中, 甚至在土壤中腐烂的植物残渣上都可以检测到多酚氧化酶的活性。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, 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。

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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、乙醚 100mL (不允许快递)、0.5mol/L HCl 溶液、研钵、30-50 目筛、冰和蒸馏水。

样本处理:

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干, 过 30~50 目筛。

测定操作表:

1. 分光光度计预热30min 以上, 调节波长至430nm, AK164-C 调零。
2. 标准液稀释: 用 0.5mol/L HCL 溶液将标准液稀释至 0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625、0.003125、0 mg/mL。
3. 标准曲线的建立: 以 0 mg/mL 标准液调零, 取 1mL 稀释好的标准液于 1mL 玻璃比色皿中在 430nm 处测定吸光值 A, 根据吸光度 (x) 和浓度 (y, mg/mL) 做出标准曲线。
4. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂(ul)	测定管
风干土样 (g)	0.05
AK164-A	500
振荡混匀, 30℃恒温培养1 h	
AK164-B	200
AK164-C	1750
振荡数次, 室温静置30min, 取1mL 上层液于430nm 处测定吸光值A。	

注意: 乙醚易挥发, 建议一次性不要测定太多样本。

S-PPO 活力计算：

根据标准曲线，将样本吸光值 $A(x)$ 带入公式中，计算出样本浓度 y (mg/mL)。

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。

$S\text{-PPO (U/g 土样)} = y \times V \text{ 提取相} \div W \div T = 840xy$

注： T：反应时间，1h=1/24d； V 提取相：1.75mL； W：样本质量，0.05g。