

土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10088

规格: 100T/96S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 50 mL×1 瓶 (自备)	4°C保存
标准液	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 临用前加入 12 mL 蒸馏水, 用不完的试剂仍 4°C保存;
- 2、试剂三: 自备乙醚;
- 3、标准液: 重铬酸钾溶液 (5 mmol/L), 相当于 0.2 mg/mL 紫色没食子素溶液。

产品说明:

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。

S-PPO 能够催化邻苯三酚产生紫色没食子素, 后者在 430nm 有特征光吸收。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板 (非聚苯乙烯材质)、乙醚 (不允许快递)、30~50 目筛、0.5mol/L HCL 溶液、冰和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干, 过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 1、可见分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 430nm, 试剂三调零。
- 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: 取 0.2mL 稀释好的标准液于比色皿或 96 孔板中在 430nm 处测定吸光值 A, 根据吸光度 (x, 减去浓度为 0 的吸光度的值) 和浓度 (y, mg/mL) 做出标准曲线。

4、样本测定表

试剂名称	测定管
风干土样 (g)	0.02
试剂一 (μL)	120
振荡混匀, 30°C恒温培养 1h	
试剂二 (μL)	50
试剂三 (μL)	430

振荡数次, 室温静置 30min, 取 200μL 上层液于 430nm 处测定吸光值 A。

三、S-PPO 活性计算

根据标准曲线, 将样本吸光值 A 带入公式中 (x), 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。

$S-PPO (U/g \text{ 土样}) = y \times V \text{ 提取相} \div W \div T = 516 \times y$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 提取相: 提取相总体积, 0.43mL; W: 样本质量, 0.02g。

注意事项:

乙醚易挥发, 转移至酶标板时建议一次性不要测定太多样本。

相关发表文献:

[1] B Li, Y Ding, X Tang, et al. MTA1 promotes the invasion and migration of pancreatic cancer cells potentially through the HIF- α /VEGF pathway. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*. August 2018;(IF2.998)

参考文献:

[1] Montgomery M W, Sgarbieri V C. Isoenzymes of banana polyphenol oxidase[J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(5-6): 1245-1249.

[2] Dogan S, Dogan M. Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from *Thymus* (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*)[J]. *Food chemistry*, 2004, 88(1): 69-77.