

土壤过氧化物酶 (S-POD) 试剂盒说明书
(货号: BP10114W 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

土壤过氧化物酶 (S-POD) 主要来源于土壤微生物, 能够氧化土壤有机物质产生过氧化物, 在腐殖质的形成过程中具有重要作用。

土壤过氧化物酶 (S-POD) 在过氧化氢存在下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过氧化物酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 110mL×2 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 3 瓶	4℃保存	每瓶: 1. 开盖前注意使粉体落入底部(可手动甩一甩); 2. 加入 30mL 试剂一, 超声溶解, 溶解后的试剂三天内用完。
试剂三	液体 1 支	4℃避光保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底; 2. 取出 60 μ L 至新 EP 管中并再加 1.5mL 的蒸馏水, 混匀备用, 三天内用完。

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

取新鲜土样或风干土壤, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 待测备用。

2、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 475nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
试剂一	160	960
试剂二	800	
试剂三	40	40
振荡混匀, 25℃水浴 (间隔 10min 振荡混匀几下) 或者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】：1. 若 A 测定大于 1.8，可用蒸馏水对离心后待检测的上清液进行稀释，则稀释倍数 D 需代入公式重新计算。
2. 若 ΔA 值小于 0.01，可延长 25℃ 的孵育时间 T（如由 1h 可增加至 4h），则改变后的 T 需代入公式重新计算。

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。

$$\text{S-POD 活力}(\text{nmol/h/g 土样}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V1 \times 10^9] \div W \div T \times D = 540.5 \times \Delta A \div W \times D$$

ϵ ---红色产物摩尔吸光系数， $3.7 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； T ---反应时间，1h；
 $V1$ ---反应总体积， $1000\mu\text{L} = 1\text{mL} = 1 \times 10^{-3} \text{ L}$ ； 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。