

土壤过氧化物酶 (Soil-Peroxidase, S-POD) 试剂盒说明书

(货号: G0317W 微板法 96 样)

一、产品简介:

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:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 110mL×2 瓶	4°C 保存	
试剂二	粉体 mg×3 瓶	4°C 保存	临用前甩几下使粉剂落入底部, 每瓶加入 30mL 试剂一, 超声溶解, 溶解后的试剂三天内用完。
试剂三	液体 μL×1 支	4°C 保存	临用前甩几下使液体落入底部, 取出 60μL 至新 EP 管中并再加 1.5mL 的蒸馏水, 混匀备用, 三天内用完。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、低温离心机、水浴锅/恒温振荡培养箱、可调式移液器。

四、土壤过氧化物酶 (S-POD) 的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样或风干土壤, 先粗研磨, 过 40 目筛网, 待测备用。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 475nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (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°C 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°C (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】:**
- 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。
 - 若 ΔA 值小于 0.01, 可延长 25°C 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。

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

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。