

# 土壤过氧化物酶（S-POD）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

**注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。**

货号：BC0890

规格：50T/24S

**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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 100 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存
标准品	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前加入 10 mL 蒸馏水，用不完的试剂 2-8℃保存一周；
- 2、试剂四：自备乙醚；
- 3、标准品：相当于每 1mL 乙醚相中含有 0.2mg/mL 紫色没食子素。

**产品说明：**

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。S-POD催化有机物质氧化成醌，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、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、0.5mol/L HCl溶液、1mL玻璃比色皿、30-50目筛、乙醚（不允许快递）、研钵、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℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

二、测定步骤

1、标准品处理：将标准品用0.5mol/L HCl溶液稀释至0.1、0.08、0.06、0.04、0.02、0.01、0mg/mL，可参考下表。

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	0.5 mol/L HCl 体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	0.2	500	500	0.1
2	0.2	400	600	0.08

3	0.2	300	700	0.06
4	0.2	200	800	0.04
5	0.2	100	900	0.02
6	0.2	50	950	0.01
7	-	-	1000	0

备注：试验中每个标准管需 1000 $\mu$ L 标准溶液。

2、标曲测定：分光光度计预热30min以上，调节波长至430nm，0mg/mL管调零，直接测定稀释后各标准管的吸光度，记为A标准。

3、样本测定：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.05	0.05
蒸馏水	-	100
试剂一 ( $\mu$ L)	400	400
试剂二 ( $\mu$ L)	100	-
震荡混匀，置于30 $^{\circ}$ C水浴锅准确反应1 h		
试剂三 ( $\mu$ L)	200	200
试剂四 ( $\mu$ L)	1750	1750
振荡数次，室温静置30min，用试剂四调零，取1mL上层液于430nm处测定吸光值A，记为A测定管、A对照管。 计算 $\Delta A$ 测定=A测定管-A对照管。每个测定管需设一个对照管。		

### 三、S-POD 活力计算

#### 1、标准曲线的建立

根据标准管的浓度 (y, mg/mL) 和吸光度A标准 (x, A标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A$ 测定 (x) 带入公式计算测定中样本的浓度y值 (mg/mL)。

#### 2、S-POD活力计算

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

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

#### 注意事项：

每个样本均需做对照管。

#### 参考文献：

[1] Doxey D L. The use of pyrogallol to demonstrate peroxidase in mammalian blood eosinophils[J]. Stain Technology, 1962, 37(6): 367-371.

[2] Nozaki O, Ji X, Kricka L J. New enhancers for the chemiluminescent peroxidase catalysed chemiluminescent oxidation of pyrogallol and purpurogallin[J]. Journal of bioluminescence and chemiluminescence, 1995, 10(3): 151-156.

#### 相关系列产品：

BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒

BC0100/BC0105 土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 活性检测试剂盒