

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。

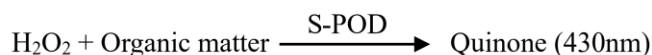
试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 4 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加入 18 mL 蒸馏水，用不完的试剂 2-8℃保存 2 周。
- 2、标准品：重铬酸钾溶液（5mmol/L），相当于 0.2mg/mL 紫色没食子素溶液。

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、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、可见分光光度计预热30min以上，调节波长至430nm，用蒸馏水调零。

2、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。

3、标准品稀释表：

序号	稀释前浓度（mg/mL）	标准品体积（mL）	0.5 mol/L HCl 体积（mL）	稀释后浓度（mg/mL）
1	0.2	1.5	1.5	0.1
2	0.1	1.6	0.4	0.08
3	0.1	0.6	0.4	0.06

4	0.08	1	1	0.04
5	0.04	1	1	0.02
6	0.02	1	1	0.01
7	-	-	1	0

备注：下述实验中每个标准管需 1mL 标准品。

4、 标曲测定：以0mg/mL的标准品为空白管，取1mL稀释好的标准品于1mL玻璃比色皿中，在430nm处测定吸光值A，分别记为A标准、A空白，ΔA标准=A标准-A空白。标准曲线只需做1-2次。

5、 样本测定：（在1.5mLEP管中依次加入以下试剂）

试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.1	0.1
试剂一（μL）	300	300
试剂二（μL）	600	600
试剂三（μL）	120	-
蒸馏水（μL）	-	120

充分振荡混匀，30℃反应1h，4℃，5000g 离心10min后，取800μL上清液于1mL玻璃比色皿中，430nm处测定吸光值A，分别记为A测定、A对照，ΔA测定=A测定-A对照。（每个测定管需设一个对照管）。

三、S-POD 活性计算

1、标准曲线的建立

根据标准管的浓度（x，mg/mL）和吸光度ΔA标准（y，ΔA标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将ΔA测定（y，ΔA测定）带入公式计算样本浓度（x，mg/mL）。

2、S-POD活性计算

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性单位。

$$\text{S-PPO活性 (U/g 土样)} = x \times V_{\text{反}} \div W \div T = 24.48 \times x \div W$$

T：反应时间，1h=1/24d；V反：反应液总体积，1.02mL；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 当样本 ΔA 测定>1 时，可降低样本质量后进行测定；当样本 ΔA 测定<0.01 时，可提高样本质量或延长反应时间后进行测定，注意同步修改计算公式。
2. 若样本量过多，建议分批次进行测定；反应后的上清液置于冰上待测，尽量在 10min 内测完，防止测定结果受氧化影响。

实验实例：

- 1、称取2管0.107g槐树土，按照测定步骤操作，用1mL玻璃比色皿测得ΔA测定=A测定-A对照=1.453-1.173=0.280，带入标曲y=8.5323x+0.0017，R²=0.9997，计算x=0.033，计算S-POD活性得：
S-POD活性（U/g 土样）=24.48×x÷W =7.550 U/g 土样。

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
- BC0120/BC0125 土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒
- BC5130/BC5135 土壤超氧化物歧化酶 (S-SOD) 活性检测试剂盒
- BC5120/BC5125 土壤丙二醛 (S-MDA) 含量检测试剂盒