

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

货号：AC10210

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，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	4℃保存
试剂四	液体 100 mL×1 瓶（自备）	4℃保存
标准品	液体 10 mL×1 瓶	4℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前加入 10 mL 蒸馏水，用不完的试剂仍 4℃保存；
- 2、试剂四：自备乙醚；
- 3、标准品：相当于每 mL 乙醚相中含有 0.1mg/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、可调式移液器、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、分光光度计预热30min以上，调节波长至430nm，试剂四调零。
- 2、标准品处理：将标准品用0.5 mol/L HCl溶液稀释至0.1、0.08、0.06、0.04、0.02、0.01、0mg/mL。
- 3、建立标准曲线：测定各个浓度的标准管的吸光度，根据吸光度（x，减去浓度为0的吸光度的值）和浓度（y）建立标准曲线。
- 4、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 (μL)		100
试剂一 (μL)	400	400
试剂二 (μL)	100	
震荡混匀, 30°C恒温培养1h		
试剂三 (μL)	200	200
试剂四 (μL)	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。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

三、S-POD 活力计算

根据标准曲线, 将 $\Delta A(x)$ 带入公式中计算出y值 (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-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.