

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

（货号：ADS-F-TR023 分光法 48 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×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 2 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 25mL 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℃ 离心 2min 使试剂落入管底； 2. 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、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）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、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 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 475nm，蒸馏水调零。

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 700μL 上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）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°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。

$$\text{S-POD 活力}(\text{nmol/h/g 土样})=[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V1 \times 10^9] \div W \div T \times D = 270.3 \times \Delta A \div W \times D$$

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，1cm;

D---稀释倍数，未稀释即为 1;

W---土壤样本实际取样量，g。