北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

土壤过氧化物酶（S-POD）活性检测试剂盒说明书

微量法

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：D17153

规格：100T/48S

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，有疑问请及时联系我们工作人员。

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 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 50 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 5.5 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。

$$\text{Soil organic matter} \xrightarrow{\text{S-POD}} \text{Quinone (430nm)}$$

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/酶标仪、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、微量玻璃比色皿/96孔板（非聚苯乙烯材质）、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**0.5 mol/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	300	300	0.1
2	0.1	400	100	0.08

3	0.1	300	200	0.06
4	0.1	200	300	0.04
5	0.1	100	400	0.02
6	0.1	50	450	0.01
7	-	-	500	0

备注：试验中每个标准管需200μL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）	0.02	0.02
蒸馏水	-	20
试剂一（μL）	100	100
试剂二（μL）	20	-
振荡混匀，置于30℃水浴锅准确反应1 h		
试剂三（μL）	50	50
试剂四（μL）	430	430
振荡数次，室温静置30min，取0.2mL上层液于430nm 处测定吸光值A，记为A测定管、A对照管。计算ΔA测定=A测定管-A对照管。（若使用分光光度计则使用试剂四调零）。 注：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ΔA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×V提取相÷W÷T=516×y

T：反应时间，1h=1/24d；V提取相：提取相总体积，0.43mL；W：样本质量，0.02g。

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.