

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

微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

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。

测定原理:

S-POD 催化有机物质氧化成醌, 后者在 430nm 有特征光吸收。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、乙醚 50mL (不允许快递) 和蒸馏水。

试剂组成和配制:

试剂一: 粉剂×2 瓶, 4℃ 保存; 临用前取一瓶, 加入 6mL 蒸馏水充分溶解后待用; 用不完的试剂 4℃ 保存一周。

试剂二: 液体 2.5mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂三: 液体 6mL×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂四: 乙醚 50mL×1 瓶, 4℃ 保存; (自备)

样品处理:

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

测定步骤:

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 430nm, 蒸馏水调零。

2、加样表

试剂名称	测定管
风干土样 (g)	0.02
试剂一 (μL)	100
试剂二 (μL)	20
振荡混匀, 30℃ 恒温培养 1 h	
试剂三 (μL)	50
试剂四 (μL)	430

振荡数次, 25℃ 室温静置 30min, 吸取 200μL 上层液于 430nm 处测定吸光值 A

(注意: 1、因乙醚粘度小, 易掉液, 吸取前需先将枪头在上层液里润洗 2~3 次, 再转移测定; 2、乙醚易挥发, 转移到 96 孔板后立即测定, 最好一个一个测定)。

S-POD 活力计算

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 8.97x - 0.003$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值 A。

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 (mg/d/g 土样) = $(A + 0.003) \div 8.97 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 80 \times (A + 0.003)$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反总: 反应体系总体积 0.6mL; W: 样本质量, 0.02g。

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 4.485x - 0.003$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值 A 。

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 (mg/d/g 土样) = $(A + 0.003) \div 4.485 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 160 \times (A + 0.003)$

T: 反应时间, 1h=1/24d; V 反总: 反应体系总体积 0.6mL; W: 样本质量, 0.02g。