

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

微量法 100 管/96 样

注 意：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。
