

## 土壤过氧化物酶（S-POD）检测试剂盒（微量法）

**注意：**正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

### 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。

### 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。

### 测定步骤表：

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（ $\mu\text{L}$ ）	100
试剂二（ $\mu\text{L}$ ）	20
振荡混匀，30℃ 恒温培养 1 h	
试剂三（ $\mu\text{L}$ ）	50
试剂四（ $\mu\text{L}$ ）	430

振荡数次，25℃ 室温静置 30min，吸取 200 $\mu\text{L}$  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。

$$\begin{aligned} \text{S-POD 活力 (mg/d/g 土样)} &= (A+0.003) \div 8.97 \times V \text{ 反总} \div W \div T \\ &= 80 \times (A+0.003) \end{aligned}$$

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。

$$\begin{aligned} \text{T-POD 活力 (mg/d/g 土样)} &= (A+0.003) \div 4.485 \times V \text{ 反总} \div W \div T \\ &= 160 \times (A+0.003) \end{aligned}$$

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。