（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-K227-S

产品规格：50 assays(25 samples)/ 100 assays(50 samples)

检测仪器：紫外-可见光分光光度计（240 nm、420nm）

Elabscience®过氧化物酶(POD)比色法测试盒

(测植物)

Peroxidase (POD) Activity Assay Kit (Plant Samples)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织中的过氧化物酶(POD)活力，不适用于血清(浆)。

检测原理

利用过氧化物酶（POD）催化过氧化氢分解为水和氧气，氧气氧化焦性没食子酸形成黄色产物的原理，通过测定 420 nm 处吸光度的变化得出其酶活性。

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1) (50 assays)	规格 2 (Size 2) (100 assays)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	60 mL×2 瓶	60 mL×4 瓶	2-8℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 (Chromogenic Agent)	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	基质液 (Substrate Solution)	1.5 mL×2 支	1.5 mL×4 支	2-8℃ 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	终止液 (Stop Solution)	30 mL×1 瓶	60 mL×1 瓶	2-8℃ 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：紫外-可见光分光光度计（240 nm、420 nm）、恒温培养箱（37℃）

试剂：双蒸水或去离子水、生理盐水（0.9% NaCl）或 PBS（0.01 M，pH 7.4）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂二应用液的配制：

临用前取一瓶试剂二加入17.5 mL的双蒸水溶解，2-8℃避光保存。

③ 试剂三应用液的配制：

临用前将试剂三用双蒸水稀释25倍，1 cm光径，双蒸水调零时，240 nm处吸光度保持在0.395-0.405，若吸光度太高，加入双蒸水稀释，若吸光度太低，则加入适量试剂三。（一般稀释25倍左右）。

④ 试剂四应用液的配制：

临用前将试剂四：双蒸水按1: 1的体积混匀即可。

样本准备

① 样本处理

植物组织样本：植物组织匀浆介质为 PBS (0.01 M，pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)，匀浆后，取上清待测，留取部分上清进行蛋白浓度测定。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.5-40 U/mL，可参考下表进行稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%月季花匀浆	不稀释	10%青椒匀浆	不稀释
10%绿萝匀浆	2-3 倍	10%香菇匀浆	不稀释

注：稀释液为 PBS (0.01 M, pH 7.4)或生理盐水(0.9% NaCl)。

实验关键点

① 严格控制反应时间。

② 实验过程全程避光，以免出现复孔差大的情况。

③ 必须在 30 min 内完成吸光度测值。

④ 测定孔 OD 值大于 0.6 时，样本需稀释后重新测定。

⑤ 在测试过程中，比色皿需润洗，以免比色皿中的残余水影响浓度。

操作步骤

① 测定管：向 5 mL EP 管中，依次加入 2.4 mL 试剂一、0.3 mL 试剂二应用液、0.2 mL 试剂三应用液、0.1 mL 待测样本；
对照管：向 5 mL EP 管中，依次加入 2.4 mL 试剂一、0.3 mL 试剂二应用液、0.2 mL 双蒸水、0.1 mL 待测样本。

② 涡旋混匀，37℃温育 30 min。

③ 向步骤②各管中，加入 1.0 mL 试剂四应用液，混匀，2300 × g，离心 10 min。

④ 取上清液，420 nm 处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。（必须在 30min 内检测完毕）。

操作表

	测定管	**对照管**
试剂一(mL)	2.4	2.4
试剂二应用液(mL)	0.3	0.3
试剂三应用液(mL)	0.2	--
双蒸水(mL)	--	0.2
待测样本(mL)	0.1	0.1
混匀，37℃ 准确反应 30 min		
试剂四应用液(mL)	1.0	1.0
混匀后，2300 × g，离心 10 min，取上清液于波长 420 nm 处，1 cm 光径石英比色皿，双蒸水调零，测定各管吸光度。		

本试剂盒检测组织样本时，需测定总蛋白浓度，推荐使用考马斯亮蓝法（货号：E-BC-K168-M）。

结果计算

植物组织样本中过氧化物酶(POD)活力计算公式：

定义：在 37℃条件下，每毫克组织蛋白每分钟催化 1 μg 底物的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{POD 活力 (U/mgprot)} = \frac{\Delta A}{12^{*}\times 1} \times \frac{V_1}{V_2} \div t \div (C_{pr} \div f) \times 1000^{*}$$

注解：

ΔA：样本测定 OD 值-样本对照 OD 值

1：比色皿光径 (1 cm)

V_1：反应液总体积 (4 mL)

V_2：加入反应体系的样本量 (0.1 mL)

t：反应时间，30 min

C_{pr}：待测样本的蛋白浓度 (mgprot/mL)

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

1000*：单位换算 (1 mg=1000 μg)

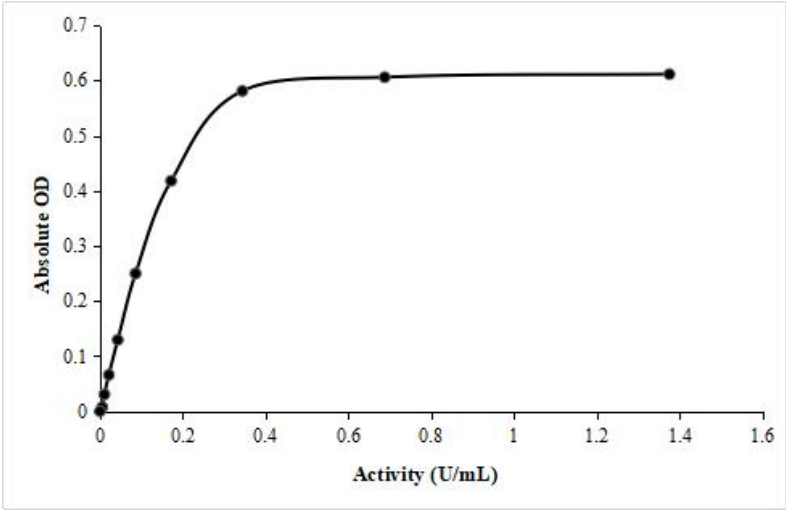
12*：吸收系数

附录1 关键数据

1. 技术参数

检测范围	0.5-40 U/mL	平均批间差	5.5 %
灵敏度	0.5 U/mL	平均批内差	3.8 %
平均回收率	98 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)



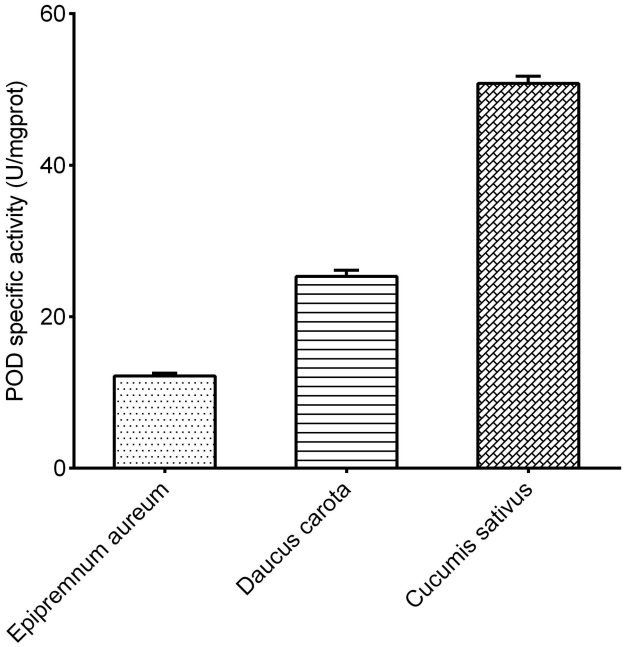
附录2 实例分析

例如检测胡萝卜组织(数据仅供参考)：

取0.1 mL 10%胡萝卜组织上清，按说明书操作，结果如下：对照管OD值为0.088，测定管OD值为0.263，同时测得蛋白浓度为0.77 mg/mL计算结果为：

$$\text{POD 活力 (U/mgprot)} = \frac{0.263-0.088}{12\times1}\times\frac{4}{0.1}\div30\div0.77\times1000\times1 = 25.25\ \text{U/mgprot}$$

按照说明书操作，测定绿萝叶（10%组织匀浆的蛋白含量1.87 mg/mL，稀释倍数2，加样量0.1 mL）、胡萝卜（10%组织匀浆的蛋白含量0.77 mg/mL，不稀释，加样量0.1 mL）和黄瓜（10%组织匀浆的蛋白含量0.91 mg/mL，稀释倍数2，加样量0.1 mL）中POD的活力（如下图）：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
复孔差异大	实验操作过程未避光	操作过程尽量将反应 EP 管避光处理
样本测不出值	样本稀释倍数太大	选择合适稀释倍数，重新检测
样本 OD 值大于 0.6	样本浓度太高	选择合适稀释倍数，重新检测
读数数值低	用不恰当波长检测	选择正确的检测波长
样本测定结果偏高	上清液浑浊	将浑浊上清液离心后测定
	未及时测量	离心结束后必须在 30 min 内测量完毕

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Li L, Wang C, Wang W, et al. Uncovering the mechanisms of how corn steep liquor and microbial communities minimize cadmium translocation in Chinese cabbage[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2024, 31(15): 22576-22587.

2. Alsamadany H, Abdulbaki A S, Alzahrani Y. Unravelling drought and salinity stress responses in barley genotypes: physiological, biochemical, and molecular insights[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1417021.

3. Alsamadany H. Physiological, biochemical and molecular evaluation of mungbean genotypes for agronomical yield under drought and salinity stresses in the presence of humic acid[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2022, 29(9): 103385.

4. Shcherban A B, Skolotneva E S, Fedyaeva A V, et al. Effect of Biopesticide Novochizol on Development of Stem Rust Puccinia graminis f. sp. tritici in Wheat, T. aestivum L[J]. Plants, 2024, 13(23): 3455.

5. Otie V, Udo I, Shao Y, et al. Salinity effects on morpho-physiological and yield traits of soybean (Glycine max L.) as mediated by foliar spray with brassinolide[J]. Plants, 2021, 10(3): 541.

6. Li J, Chen S, Zhong J, et al. Removal of formaldehyde from indoor air by potted Sansevieria trifasciata plants: dynamic influence of physiological traits on the process[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2024, 31(54): 62983-62996.