

土壤过氧化氢酶（Solid-Catalase, S-CAT）试剂盒说明书

微量法 100管/48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-CAT是土壤微生物代谢的重要酶类，在H₂O₂清除系统中具有重要作用。

测定原理：

H₂O₂在240nm下有特征吸收峰，通过测定与土壤反应后溶液在此波长下吸光度的变化，即可反应S-CAT活性的高低。

需自备的仪器和用品：

紫外分光光度计/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（UV板）和蒸馏水

试剂组成和配制：

试剂一：液体300μL×1瓶，4℃保存；临用前加入29.7mL蒸馏水充分溶解后待用；用不完的试剂4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入1mL蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂4℃保存（如出现结晶析出，60℃-90℃水浴溶解后使用）；

试剂三：液体3mL×1瓶，4℃保存。

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240nm，蒸馏水调零。
2. 测定前务必准备96孔UV板一块（UV板不是普通酶标板，普通酶标板只能透过可见光，不能透过紫外光，检测波长小于340nm务必使用UV板）。
3. 加样表

试剂名称	测定管	无基质管	无土管
风干土样（g）	0.03	0.03	
试剂一（μL）	260		260
蒸馏水（μL）		260	

25℃振荡培养 20min

试剂二（μL）	10	10	10
---------	----	----	----

混匀8000g，25℃离心5min，取180uL上清

试剂三（μL）	20	20	20
---------	----	----	----

混匀，240nm处记录各管吸光值A。注意：每个测定管要设一个无基质管，无土管只要做一管。

S-CAT活性计算：

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

单位的定义：每天每g风干土样催化1 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

计算公式：S-CAT (μ mol/d/g) = [(A无土管-A测定管+A无基质管)×V反总÷(ε×d) ×106]÷W÷T=16.5×(A无土管-A测定管+A无基质管)

V反总：反应体系总体积，3×10⁻⁴ L；ε：过氧化氢摩尔消光系数，4.36×10⁴ L / mol /cm；d：比色皿光径，1cm； T：反应时间，20 min=1/72d； W：样本质量，0.03g。

b.用96孔板测定的计算公式如下

单位的定义：每天每g风干土样催化1 μ mol H₂O₂降解定义为一个酶活力单位。

计算公式：S-CAT (μ mol/d/g) = [(A无土管-A测定管+A无基质管)×V反总÷(ε×d) ×106]÷W÷T=33×(A无土管-A测定管+A无基质管)

V反总：反应体系总体积，3×10⁻⁴ L；ε：过氧化氢摩尔消光系数，4.36×10⁴ L / mol /cm；d：96孔板光径，0.5cm； T：反应时间，20 min=1/72d； W：样品质量，0.03g。

www.affandi-e.com