

## 土壤过氧化氢酶（Solid-Catalase, S-CAT）试剂盒说明书

### 分光光度法 50 管/24 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-CAT 是土壤微生物代谢的重要酶类，在 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 清除系统中具有重要作用。

**测定原理：**

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 石英比色皿和蒸馏水

**试剂组成和配制：**

试剂一：液体 100μL×5 瓶，4℃保存；临用前每瓶加入 9.9mL 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 2mL 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 6mL×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：**

试剂名称	测定管	无基质管	无土管
风干土样 (g)	0.1	0.1	
试剂一 (μL)	1000		1000
蒸馏水 (μL)		1000	

25℃振荡培养 20min

试剂二 (μL)	25	25	25
混匀 8000g, 25℃离心 5min, 取 820μL 上清			
试剂三 (μL)	96	96	96

混匀，用蒸馏水调零，240nm 处记录各管 A 值。

**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：**

单位的定义：每天每 g 风干土样催化 1μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。



计算公式:  $S\text{-CAT} (\mu\text{mol/d/g}) = [(A_{\text{无土管-A 测定管}} + A_{\text{无基质管}}) \times V_{\text{反应}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^6] \div W \div T = 18.9 \times (A_{\text{无土管-A 测定管}} + A_{\text{无基质管}})$

V 反应: 反应体系总体积,  $1.145 \times 10^{-3}$  L;  $\varepsilon$ : 过氧化氢摩尔消光系数,  $4.36 \times 10^4$  L / mol / cm; d: 比色皿光径, 1cm; T: 反应时间,  $20 \text{ min} = 1/72 \text{ d}$ ; W: 样本质量, 0.1g。