

## 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  $H_2O_2$  清除系统中具有重要作用。

#### 测定原理：

$H_2O_2$  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 100 $\mu$ L $\times$ 5 瓶，4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 保存；

试剂二：粉剂 $\times$ 1 瓶，4 $^{\circ}$ C 保存；临用前加入 2mL 蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂 4 $^{\circ}$ C 保存（如出现结晶析出，60 $^{\circ}$ C-90 $^{\circ}$ C 水浴溶解后使用）；

试剂三：液体 6mL $\times$ 1 瓶，4 $^{\circ}$ C 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 ( $\mu$ L)	1000		1000
蒸馏水 ( $\mu$ L)		1000	
25 $^{\circ}$ C 振荡培养 20min			
试剂二 ( $\mu$ L)	25	25	25
混匀 8000g, 25 $^{\circ}$ C 离心 5min, 取 820 $\mu$ L 上清			
试剂三 ( $\mu$ L)	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 1 $\mu$ mol  $H_2O_2$  降解定义为一个酶活力单位。

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

V 反总: 反应体系总体积,  $1.145 \times 10^{-3}$  L;  $\epsilon$ : 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 min = 1/72d; W: 样本质量, 0.1g。