

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 μ L $\times$ 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 $\times$ 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 $\times$ 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（ μ L）	1000		1000
蒸馏水（ μ L）		1000	

25℃ 振荡培养 20min

试剂二（ μ L）	25	25	25
---------------	----	----	----

混匀 8000g，25℃ 离心 5min，取 820 μ L 上清

试剂三（ μ 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 μ mol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

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

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