

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 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、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 $1\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 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， 1.145×10^{-3} L； ϵ ：过氧化氢摩尔消光系数， 4.36×10^4 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。