

土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0100

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 0.5 mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 6 mL×1 瓶	4℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂一：液体置于试剂瓶内 EP 管中。临用前取 0.05 mL 试剂一加入 9.95 mL 蒸馏水稀释待用或者按比例配制。用不完的试剂 4℃保存。
- 2、试剂二：临用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂 4℃保存。

产品说明：

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。

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。

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

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、研钵、蒸馏水、30~50 目筛。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 240nm，蒸馏水调零。

2、加样表：

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
双蒸水 (μL)		1000	
25℃振荡培养 20min			
试剂二 (μL)	25	25	25
混匀 8000g, 25℃离心 5min, 取全部上清			
试剂三 (μL)	120	120	120

混匀，240nm 处记录各管 A 值。（每个测定管要设一个无基质管，无土管只要做 1-2 管）

三、S-CAT 活力的计算

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

计算公式：S-CAT (U/g 土样) = [(A 无土管 - A 测定管 + A 无基质管) × V 反总 ÷ (ε × d) × 10³] ÷ W ÷ T
= 18.9 × (A 无土管 - A 测定管 + A 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，43.6 L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；
T：反应时间，20min = 1/72d；W：样本质量，0.1g。

注意事项：

如果吸取的上清仍有部分浑浊，可以在加入试剂三后统一再次进行离心。

相关发表文献：

[1] Hou Q, Wang W, Yang Y, et al. Rhizosphere microbial diversity and community dynamics during potato cultivation[J]. European Journal of Soil Biology, 2020, 98: 103176.

参考文献：

- [1] 杨兰芳, 曾巧, 李海波, et al. 紫外分光光度法测定土壤过氧化氢酶活性[J]. 土壤通报, 2011, 42(1):207-210.
[2] Johansson L H, Borg L A H. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples[J]. Analytical biochemistry, 1988, 174(1): 331-336.