

土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 活性检测试剂盒说明书

微量法

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：AC10086

规格：100T/48S

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 0.3 mL×1 瓶	4°C 保存
试剂二	粉剂×1 支	4°C 保存
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	4°C 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 0.05mL 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°C 保存；
- 2、试剂二：临用前加入 1 mL 蒸馏水充分溶解待用，用不完的试剂 4°C 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/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板（UV 板）、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°C 烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 1、分光光度计或酶标仪预热 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)	0.03	0.03	
试剂一 (μL)	260		260
双蒸水 (μL)		260	
25°C 振荡培养 20min			

试剂二 (μL)	10	10	10
混匀 8000g, 25°C离心 5min, 取全部上清			
试剂三 (μL)	30	30	30

混匀, 取200μL至微量石英比色皿或96孔板中, 240nm处记录各管吸光值A。(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活性计算

A、用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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。

$$\text{计算公式: S-CAT (U/g 土样)} = [(A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}}) \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^3] \div W \div T$$

$$= 16.5 \times (A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}})$$

V 反总: 反应体系总体积, 3×10⁻⁴ 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, 20 min=1/72d; W: 样本质量, 0.03g。

B、用96孔板测定的计算公式如下

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。

$$\text{计算公式: S-CAT (U/g 土样)} = [(A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}}) \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^3] \div W \div T$$

$$= 27.5 \times (A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}})$$

V 反总: 反应体系总体积, 3×10⁻⁴L; ε: 过氧化氢摩尔消光系数, 43.6 L/mol/cm; d: 96孔板光径, 0.6cm; T: 反应时间, 20 min=1/72d; W: 样本质量, 0.03g。

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:

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.