

## 土壤过氧化氢酶（S-CAT）检测试剂盒（分光光度法）

**注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。**

### 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。

### 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 (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 1μmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 降解定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-CAT } (\mu\text{mol/d/g}) &= [(A \text{ 无土管} - A \text{ 测定管} + A \text{ 无基质管}) \times V \text{ 反总} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div W \div T \\ &= 18.9 \times (A \text{ 无土管} - A \text{ 测定管} + A \text{ 无基质管}) \end{aligned}$$

V 反总: 反应体系总体积, 1.145×10<sup>-3</sup> L;

ε: 过氧化氢摩尔消光系数, 4.36×10<sup>4</sup> 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。