

# 土壤过氧化氢酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHB7-C24	土壤过氧化氢酶(S-CAT)试剂盒	24T	常量法
SMHB7-C48		48T	

## 一、测定意义：

过氧化氢酶是参与土壤中物质和能量和钻花的一种重要氧化还原酶，土壤过氧化氢酶促进过氧化氢的分解有利于它防止对生物体的毒害作用，一定程度上可以表征土壤生物氧化还原的过程的强弱。过氧化氢酶活性与土壤呼吸作用和微生物活性有关。

## 二、测定原理：

过氧化氢酶酶促过氧化氢分解生成水和氧气，过氧化氢与钼酸铵生成稳定的络合物，该产物在 405nm 有特征吸收峰，通过测定过氧化氢前后含量的变化来表示土壤过氧化氢酶活性。

## 三、试剂盒组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
试剂一	3mL×1 瓶	5mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一应用液的配制：将试剂一贮备液用蒸馏水 15 倍稀释，按照比例现用现配。			
试剂二	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃ 保存
试剂三应用液的配制：用时每瓶粉剂加入蒸馏水 70mL，4℃ 保存。			
标准品溶液（1mmol/mL）	1.5mL×1 支	1.5mL×1 支	4℃ 保存
25μmol/mL 标准品的配制：将标准品贮备液用蒸馏水 40 倍稀释，现用现配。			

## 四、操作步骤：

### 一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干，过 30-50 目筛。

### 二、操作步骤

#### 1、培养反应：

	测定管	对照管	基质管	空白管	标准管
土样（g）	0.05	0.05	-		
试剂一（μL）	1000	-	1000		
蒸馏水（μL）	-	1000	-	1000	
25μmol/mL 标准品（μL）					1000
30℃ 准确反应 30min					
试剂二（μL）	200	200	200	200	200

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

## 2、显色反应:

	测定管	对照管	基质管	空白管	标准管
上清液 (μL)	100	100	100	100	100
试剂三应用液 (μL)	1000	1000	1000	1000	1000

混匀, 室温静置 5min, 波长 405nm, 1cm 光径, 空白管调零, 测定各管吸光度值。

注: 每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管, 基质管、空白管和标准管只需要做一管;

## 五、单位定义与计算:

**单位定义:** 每小时每克土壤中消耗 1μmol 过氧化氢的量为一个酶活力单位

**计算公式:**

$$S-CAT \text{ (U/g)} = \frac{A_{\text{基质管}} - (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}})}{A_{\text{标准管}}} \times \frac{\text{标准品浓度}}{(25\mu\text{mol/mL})} \times V \div T \div W$$

**T:** 反应时间, 0.5h;

**V:** 反应体系总体积, 1.2mL;

**W:** 样本质量, 0.1g。

## 六、注意事项:

- 1、试剂三应用液若是出现絮状沉淀, 则不可以使用;
- 2、比色时, 溶液呈现淡黄色, 在 2h 内保持稳定。
- 3、不同土壤样本的过氧化氢酶差异较大, 先做预实验确认样本活力。可以适当改变样本取样量或者反应时间, 计算公式相应改变即可。

## 附录 I：标准曲线的制备

### 1、前处理

将 1mmol/mL 的标准液用蒸馏水稀释成 0、6.25、12.5、25、50、100 $\mu$ mol/mL 标准液进行标准曲线的制备。

### 2、操作表

	空白管	标准管
蒸馏水 ( $\mu$ L)	1000	
标准品 ( $\mu$ L)		1000
30 $^{\circ}$ C 准确反应 30min		
试剂二 ( $\mu$ L)	200	200

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

	空白管	标准管
上清液 ( $\mu$ L)	100	100
试剂三应用液 ( $\mu$ L)	1000	1000

混匀，室温静置 5min，波长 405nm，1cm 光径，空白管调零，测定各管吸光度值。

### 3、测定结果

标准浓度 ( $\mu$ mol/mL)	Abs
0	0.000
6.25	0.085
12.5	0.163
25	0.326
50	0.652
100	1.254

土壤过氧化氢酶标准曲线

$$y = 79.663x - 0.6359$$
$$R^2 = 0.9996$$

