

CheKine™ 土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 活性检测试剂盒 (微量法)

Cat #: KTB4050

Size: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号：见产品标签

	适用样本：土壤样本
	保质期：4℃，保存 12 个月

01 背景与原理

过氧化氢酶(Catalase, CAT)(EC 1.11.1.6)是一种酶类清除剂，是以铁卟啉为辅基的结合酶，它可促使 H_2O_2 分解为分子氧和水。土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 是土壤微生物代谢中的重要酶类，在 H_2O_2 清除系统中具有重要作用。

本试剂盒检测原理是 H_2O_2 在 240 nm 下有特征吸收峰，通过测定反应前后土壤提取液溶液在此波长下吸光度的变化，即可反映 S-CAT 活性的高低。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	350 μ L	700 μ L	4℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃
Reagent III	3 mL	6 mL	4℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 240 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	去离子水	检测体系配制用
其他	恒温水浴锅、恒温摇床、离心机、30-50 目筛、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询
本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴
实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Working Reagent I	临用前配制，48 T 加入 34.65 mL 去离子水，96 T 加入 69.3 mL 去离子水，充分混匀待用	4℃保存 1 周
Working Reagent II	临用前配制，48 T 加入 1.2 mL 去离子水，96 T 加入 2.4 mL 去离子水，充分溶解待用	4℃保存 4 周(若有结晶析出，60℃-90℃水浴溶解后使用)
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存数周。测定时，应控制解冻的温度和时间。
室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 土壤样本：新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 240 nm。
2. 检测体系配制：无土管只需测定 1 次，每个测定管需设置一个无基质管。下述操作在 1.5 mL EP 管中进行：

试剂	测定管	无基质管	无土管
风干土样 (g)	0.03	0.03	0
Working Reagent I (μL)	260	0	260
去离子水 (μL)	0	260	0
25℃振荡培养 20 min			
Working Reagent II (μL)	10	10	10
混匀，8000 g，25℃离心 5 min，取 180 μL 上清至 96 孔 UV 板中			
Reagent III (μL)	20	20	20

3. 吸光度检测：充分混匀，于 240 nm 处测定各管吸光度，分别记为 A_{测定}、A_{无基质}、A_{无土}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

样本 S-CAT 活性计算

用 96 孔 UV 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 1 μmol H_2O_2 降解定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-CAT(U/g 土样)} = [(A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}}) \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^6] \div W \div T = 33 \times (A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}})$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积， 3×10^{-4} L； ϵ ：过氧化氢摩尔消光系数， 4.36×10^4 L/mol/cm； d ：96 孔 UV 板光径，0.5 cm；

T ：反应时间，20 min = 1/72 d； W ：样本质量，0.03 g。

07 结果展示

示例-1：取 0.03g 的土壤 1，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\text{S-CAT(U/g 土样)} = 33 \times (A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}}) = 33 \times (1.999 - 0.606 + 0.135) = 50.424$ U/g 土样。

示例-2：取 0.03g 的土壤 2，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\text{S-CAT(U/g 土样)} = 33 \times (A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}} + A_{\text{无基质管}}) = 33 \times (1.999 - 0.561 + 0.137) = 52.008$ U/g 土样。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $(A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}})$ 过高或者过低怎么办？

如果 $(A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}})$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $(A_{\text{无土管}} - A_{\text{测定管}})$ 大于 1.5，减少提取用样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB4010	CheKine™ 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB4020	CheKine™ 土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 活性检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 土壤过氧化氢酶（S-CAT）活性检测流程示意图

(AbbKine 货号：KTB4050)

样本处理



土壤样本

新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干，过30-50目筛



体系配置



测定管



无基质管



无土管

风干土样 0.03 g 风干土样 0.03 g Working Reagent I 260 μ L
Working Reagent I 260 μ L 去离子水 260 μ L

25℃振荡培养20 min

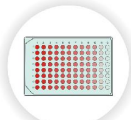
Working Reagent II 10 μ L Working Reagent II 10 μ L Working Reagent II 10 μ L

混匀，8000 g，25℃离心5 min，取180 μ L上清至96孔UV板中

Reagent III 20 μ L Reagent III 20 μ L Reagent III 20 μ L

迅速混匀

数据检测



测定240 nm吸光度结果计算