

土壤过氧化氢酶（S-CAT）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1824

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

产品简介

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。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析土壤样本中的过氧化氢酶活性，其原理是利用过氧化氢酶的过氧化物酶功能来测定过氧化氢酶的活性。在合适浓度的 H_2O_2 存在的条件下，土壤过氧化氢酶与甲醇反应，产生甲醛，生成的甲醛可以与显色物反应，产物可以在 540nm 处测量吸光度，S-CAT 活性与 OD 值成正比。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
反应缓冲液（10×）	5mL	10mL	4℃
试剂一	2mL	4mL	4℃
试剂二	2mL	4mL	4℃
试剂三	0.5mL	1mL	-20℃
试剂四	2mL	4mL	-20℃避光保存
试剂五	1mL	2mL	4℃
甲醛标准品（4M）	100 μL	100 μL	4℃

自备耗材

酶标仪或紫外分光光度计（能测 540nm 处的吸光值）及恒温培养箱或水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

台式离心机、30-50 目筛

去离子水

试剂准备

反应缓冲液（1×）：反应缓冲液（10×）去离子水 1:10 稀释后（2mL 10×反应缓冲液+18mL 去离子水），可在 4℃ 保存至少两个月。

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂三：用 9.96mL 去离子水稀释 40μL 试剂三。稀释后的试剂三溶液可保存 4h。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

试剂五：即用型；使用前，平衡到室温；4℃ 保存。

标准品制备：用 9.99mL 去离子水稀释 10μL 甲醛标准品（4M），得到 4mM 的储存液。按下表所示，进一步稀释标准品。

标准品编号	标准品体积（μL）	去离子水体积（μL）	标准品浓度（mM）
标准品 1	40μL of 4mM	320	0.4

产品说明书

标准品 2	200μL of 标准品 1	200	0.2
标准品 3	200μL of 标准品 2	200	0.1
标准品 4	200μL of 标准品 3	200	0.05
标准品 5	200μL of 标准品 4	200	0.025
标准品 6	200μL of 标准品 5	200	0.0125
标准品 7	200μL of 标准品 6	200	0.00625

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样（g）	0.02	0.02	0	0
1×反应缓冲液（μL）	100	100	0	0
试剂一（μL）	30	30	0	0
去离子水（μL）	0	20	0	0
稀释后的试剂三	20	0	0	0

充分混匀，室温孵育 20min，8000g 25℃离心 10min，取上清液到新的 EP 管中

上清液（μL）	100	100	0	0
标准品（μL）	0	0	100	0
去离子水（μL）	0	0	0	100
试剂二（μL）	30	30	30	30
试剂四（μL）	30	30	30	30

充分混匀，室温孵育 10min

试剂五（μL）	10	10	10	10
---------	----	----	----	----

充分混匀，室温孵育 5min，4,000g 25℃离心 10min，取 100 μL 于 96 孔板或微量玻璃比色皿，测定 540nm 处的吸光值 A。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意：每个测定管需设一个对照，标准曲线和空白只需要测一次。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 2.0，可减少样本量进行检测，结果计算时调整样本质量；如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005，可增加样本量进行检测，结果计算时调整样本质量。

结果计算

1. 标准曲线绘制：

以甲醛标准溶液终浓度(mM)为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将样本的 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入方程得到 y 值（1mM=1mmol/L=1 μmol/mL）。

2. 样本 S-CAT 活性计算

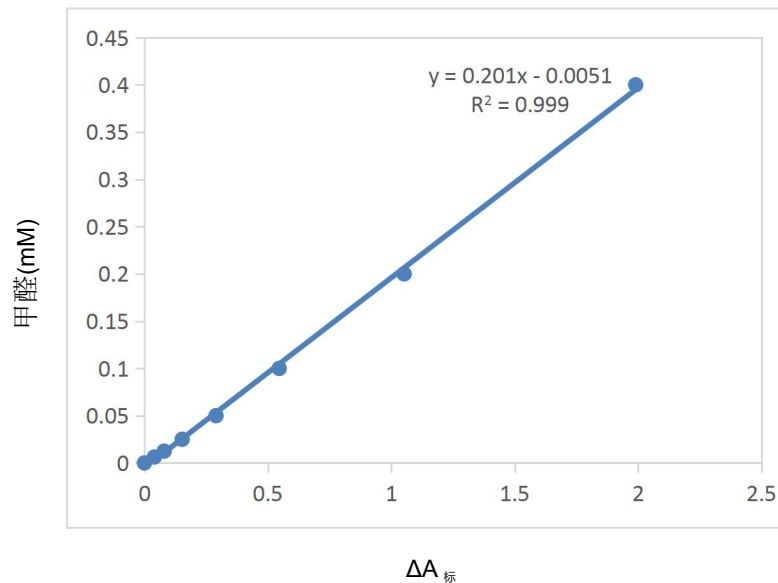
单位的定义：每天每 g 风干土样催化产生 1 μmol 甲醛定义为一个酶活力单位 U。

$S\text{-CAT (U/g)} = y \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 10.8y \div W$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.15mL；T：反应时间，20min=1/72d；W：样品质量，0.02g。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1819 土壤脲酶 (S-UE) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1820 土壤多酚氧化酶 (S-POD) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1825 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1833 土壤亚硝酸还原酶 (S-NiR) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

