

KSCN配位显色法测定过氧化氢酶活性

单红芳, 陈 宁, 张爱菊, 李 花, 张小林, 李晓青



甘肃医学院药学院 (甘肃平凉 774000)

【摘要】目的 针对前期显色法测定过氧化氢酶活性时存在的检测限偏高、灵敏度不足及显色溶液稳定性差等问题, 建立一种新的过氧化氢酶活性检测方法。**方法** Fe^{2+} 与 SCN^- 不发生显色反应, 而 H_2O_2 可氧化 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} , Fe^{3+} 与 SCN^- 进一步形成在 458 nm 处有最大吸收的 $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$ 配合物, 体系的吸光度与 H_2O_2 浓度呈正相关; 当过氧化氢酶存在时, 可催化分解 H_2O_2 , 导致吸光度随时间递减, 其递减速率 ($\Delta A/t$) 即反映了酶的催化活性。**结果** 过氧化氢酶活性有效测定范围为 20~400 U/L, 最低检测限为 10 U/L。**结论** 本研究首次在光度法中使用无机显色剂, 通过配位反应构建了一种准确、稳定、抗干扰能力强的过氧化氢酶活性测定方法, 适用于微量酶活性检测, 具有良好的推广应用价值。

【关键词】 过氧化氢酶; 过氧化氢; 硫氰酸钾; 显色反应; 活性; 紫外-可见分光光度法; 微量检测

【中图分类号】 O657.3

【文献标识码】 A

Determination of catalase activity by KSCN coordination colorimetric method

SHAN Hongfang, CHEN Ning, ZHANG Aiju, LI Hua, ZHANG Xiaolin, LI Xiaoqing

Department of Pharmacy, Gansu Medical College, Pingliang 744000, Gansu Province, China

Corresponding author: LI Xiaoqing, Email: 253062745@qq.com

【Abstract】Objective To establish a new method for detecting catalase activity to address the issues of high detection limit, insufficient sensitivity, and poor stability of the colorimetric solution in the previous colorimetric method. **Methods** Fe^{2+} did not undergo color reaction with SCN^- . However, when Fe^{2+} was oxidized to Fe^{3+} by H_2O_2 , Fe^{3+} formed a $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$ complex with SCN^- that exhibited maximum absorption at 458 nm. The absorbance was positively correlated with the concentration of H_2O_2 . When catalase was present, it catalysed the decomposition of H_2O_2 , resulting in a decreasing absorbance with time, and the rate of decrease ($\Delta A/t$) reflected the catalytic activity of the enzyme. **Results** The effective detection range for catalase activity was 20-400 U/L, with a minimum detection limit of 10 U/L. **Conclusion** This study is the first to use inorganic color reagents in photometry and construct an accurate, stable, and anti-interference method for measuring catalase activity through coordination reactions. This method is suitable for detecting trace enzyme activity and has good promotion and application value.

【Keywords】 Catalase; Hydrogen peroxide; Potassium thiocyanate; Color reaction; Activity; Ultraviolet-visible spectrophotometry; Micro detection

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202503094

基金项目: 甘肃医学院院(系)主任“负责制项目”(GY-2023FZZ06); 甘肃省 2024 年高校教师创新基金项目(2024B-215); 甘肃省 2025 年高校教师创新基金项目(2025B-267)

通信作者: 李晓青, 硕士, 讲师, Email: 253062745@qq.com

过氧化氢酶 (catalase, CAT) 作为一种酶类清除剂, 是生物防御体系的关键酶之一^[1-2], 能够催化过氧化氢 (H_2O_2) 分解为 H_2O 和 O_2 , 从而清除体内 H_2O_2 , 保护细胞免受其毒害。该酶在医药领域具有多种用途, 涵盖药物制备与生产、临床诊断与治疗、生物制剂生产以及增强免疫力与促进健康等方面。目前关于 CAT 活性检测的方法较多, 包括滴定法^[3]、化学发光法^[4]、催化荧光法^[5]、紫外分光光度法^[6-7]等。其中, 滴定法最为常用, 但检测限较高; 荧光法可实现微量检测, 但稳定性较差, 不利于常规经济分析; 紫外分光光度法仅针对底物 H_2O_2 , 光灵敏性有限; 褪色光度法^[8]和显色光度法^[9-13]因操作简便、成本低而广受推崇, 但所用显色剂和染料多属有毒有机物, 且反应过程复杂、不易彻底。目前, 以无机试剂为主体、基于 $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$ 配位显色反应测定 CAT 活性的研究仍较为少见。

硫氰酸钾 (KSCN), 又称硫氰化钾, 是 Fe^{3+} 的专一性探针试剂^[14-18], 加入后可与 Fe^{3+} 形成血红色配合物。在过 CAT 分解 H_2O_2 的过程中, 若存在过量 Fe^{3+} , 剩余的 H_2O_2 可将其部分氧化为 Fe^{2+} , 生成的 $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$ 配合物在 458 nm 波长处具有最大吸光度 (A), 且该 A 值与剩余 H_2O_2 浓度呈正相关。因此, 通过酶反应前后 A 的差值 (ΔA) 即可确定酶活性。KSCN 显色光度法虽然在灵敏度上不及荧光法, 但其检测准确度更高, 反应快速, 计量关系明确, 操作简便, 过程安全环保, 对生物样品分析的相对标准偏差低至 1.63%。新方法的各项性能指标均表明, 其非常适用于 CAT 检测试剂盒的研发。基于上述优势, 本研究拟通过系统试验对该检测体系进行进一步优化与验证。

1 材料

1.1 主要仪器

UV1102 紫外-可见分光光度计 (上海天美科学仪器有限公司); PHS-3C/3E/25 酸度计 (上海雷磁); FA2004N 电子分析天平 (上海菁海科技有限责任公司)。

1.2 主要药品与试剂

CAT (英国沃特曼, 来源于牛肝脏, 批号: JS301719, 纯度 $\geq 3\ 000\ \text{U/mg}$); KSCN (天津市登丰化学品的有限责任公司, 批号: 20210301); 七水硫酸亚铁 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 天津市天力化学试剂有限

责任公司, 批号: 2024100801); 3% H_2O_2 (山东利尔康医疗科技股份有限公司, 批号: 20240817)。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

CAT 工作液 (300 U/L): 称取 1 mg CAT 固体, 用 100 mL 二次蒸馏水溶解并定容, 于 4℃ 低温保存; 使用前需再次稀释 100 倍。

H_2O_2 标准溶液 (0.01 mol/L): 用微量取样器取 3% H_2O_2 溶液 5 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加水稀释并定容; 采用高锰酸钾法进行标定, 溶液于 4℃ 低温密封保存, 使用前需再次稀释。

0.01 mol/L Fe^{2+} 溶液: 称取 0.278 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 直接置于小试剂瓶中, 加入 100 mL 水, 振荡溶解后, 加入 1 粒锌粒, 可长期保存。

0.1 mol/L KSCN 溶液: 称取 0.9718 g KSCN 固体, 加入 100 mL 水溶解。

0.5 mol/L 硫酸 (H_2SO_4) 溶液: 量取 5 mL 浓 H_2SO_4 , 缓慢加入 180 mL 超纯水中, 混匀均匀。

2.2 测定原理

CAT 可催化分解 H_2O_2 。在 H_2SO_4 介质中, 当存在过量 Fe^{2+} 时, 未被分解的剩余 H_2O_2 会将 Fe^{2+} 氧化生成 Fe^{3+} 。生成的 Fe^{3+} 与 SCN^- 形成配合物, 该配合物在 458 nm 波长处具有最大吸收峰。反应方程式如下:



$\text{Fe}^{3+} + \text{SCN}^- \rightarrow n[\text{Fe}(\text{SCN})_n]^{3-n}$ ($n=1\sim 6$ 时均为血红色)

酶活性通过加酶前后 ΔA 来确定。根据公认的定义, 酶活性是指在 1 min 内, 单位体积酶液所能分解的 H_2O_2 物质的量 (μmol), 其值可通过公式 (1) 计算得出:

$$E(\text{U/L}) = \frac{\Delta A}{K} \times 1\ 000 \times \frac{V}{v \times t} \quad \text{公式 (1)}$$

其中, ΔA 为加酶前后 A 差值 (比色皿液层厚度为 1 cm); t 为反应时间 (min); K 为工作曲线方程斜率 [H_2O_2 表观毫摩尔吸光系数, $\text{L}/(\text{mmol} \cdot \text{cm})$], 表示 1 mmol/L H_2O_2 对应的 A 变化量; V 为反应液体积 (mL); v 为酶样品体积酶活性; 1 000 为单位转换系数。

2.3 测定方法

在 10 mL 比色管中, 依次加入一定体积的

酶液和 0.20 mL 0.01 mol/L H_2O_2 溶液, 于 25℃ 孵育 10 min; 随后加入 0.10 mL 0.5 mol/L H_2SO_4 溶液终止酶反应; 再加入 1.00 mL 0.01 mol/L Fe^{2+} 溶液, 室温反应 5 min; 之后加入 1.00 mL 0.1 mol/L KSCN 溶液, 最后用蒸馏水定容至刻度。以蒸馏水作为参比溶液, 使用光径为 1 cm 的比色皿, 在 458 nm 波长下测定 A 值。

另取一支 10 mL 比色管, 先向酶液中直接加入 H_2SO_4 使其灭活, 再加入 0.20 mL 0.01 mol/L H_2O_2 溶液, 后续操作步骤与前文相同, 测定 A_0 。根据 $\Delta A (A_0 - A)$ 计算酶液活性。

2.4 吸收曲线分析

$\text{Fe}^{2+}/\text{SCN}^-$ 混合溶液在 360~700 nm 波长区间内无吸收峰, 表明两者不发生显色反应。然而, 当存在 H_2O_2 时, H_2O_2 将 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} , Fe^{3+} 与 SCN^- 发生配位反应并显色, 生成配合物 $[\text{Fe}(\text{SCN})_n]^{3-n}$, 其在 458 nm 处出现最大吸收峰。该吸收峰的 A 值与 H_2O_2 浓度呈正相关 (图 1)。当 H_2O_2 浓度为 0.02 mmol/L 时, 测得 A 值为 1.258, 计算得 H_2O_2 的表观摩尔吸光系数超过 $6 \times 10^4 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ 。结果表明, 即使微摩尔级别的 H_2O_2 也对显色反应具有显著增强作用, 这为 CAT 活性的测定提供了便利。

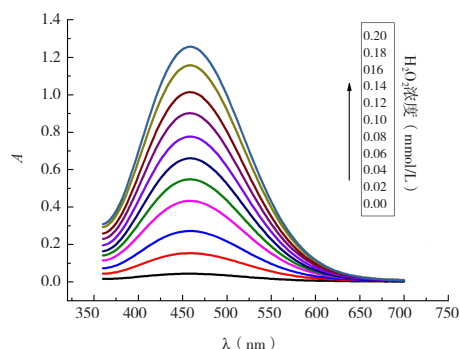


图1 不同浓度 H_2O_2 显色反应体系吸收曲线

Figure 1. The absorption curves of H_2O_2 color reaction system

2.5 KSCN显色反应条件优化

2.5.1 Fe^{2+} 反应浓度的影响

设定 H_2O_2 的反应浓度为 0.10 mmol/L, 分别取 0.01 mol/L Fe^{2+} 溶液 0.10、0.30、0.50、0.70、1.00、1.50、2.00 mL 进行试验, 对应 Fe^{2+} 的反应浓度依次为 0.1、0.3、0.5、0.7、1.0、1.5、2.0 mmol/L。结果表明, 当 Fe^{2+} 浓度大于 0.7 mmol/L 时, H_2O_2 完全反应, A 值达到最大 (图 2)。此时 Fe^{2+} 与 H_2O_2 的浓度比超过 7 : 1, 说明 Fe^{2+} 相对过量。当

Fe^{2+} 浓度较低时, 一方面 H_2O_2 过量导致生成的 Fe^{3+} 不足, 另一方面产物 Fe^{3+} 可能引发 H_2O_2 的内部分解, 从而使 KSCN 显色反应受到限制。为减少副反应引入的系统误差, 最终选择 Fe^{2+} 的反应浓度为 1.0 mmol/L, 此时需取 0.01 mol/L Fe^{2+} 溶液 1.00 mL。

2.5.2 H_2SO_4 浓度的影响

设定 H_2O_2 的反应浓度为 0.10 mmol/L, 操作步骤同前。本研究重点考察 0.5 mol/L H_2SO_4 的体积对 KSCN 显色反应程度的影响。从图 3 可以看出, H_2O_2 的得电子反应需在酸性环境中进行, 酸性条件可有效抑制 Fe^{3+} 的水解。结果表明, 当 H_2SO_4 浓度为 5 mmol/L 时, 体系在 458 nm 处的 A 值达到最大; 而当 H_2SO_4 浓度大于 15 mmol/L 时, A 值迅速下降, 这是由于酸度过高加剧了质子化效应, 使 SCN^- 以 HSCN 分子形式存在, 从而导致 Fe^{3+} 的络合反应受到抑制。因此, 最终将 H_2SO_4 的反应浓度设定为 5 mmol/L, 此时需加入 0.5 mol/L H_2SO_4 溶液 0.10 mL。

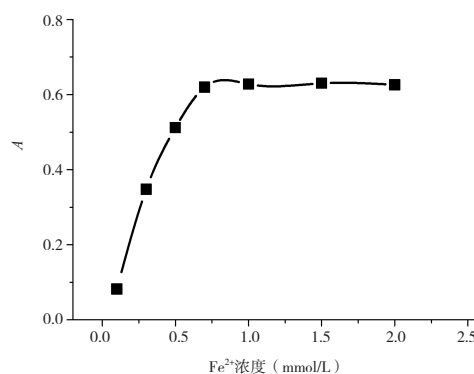


图2 反应液 Fe^{2+} 浓度的影响

Figure 2. The influence of Fe^{2+} concentration in reaction solution

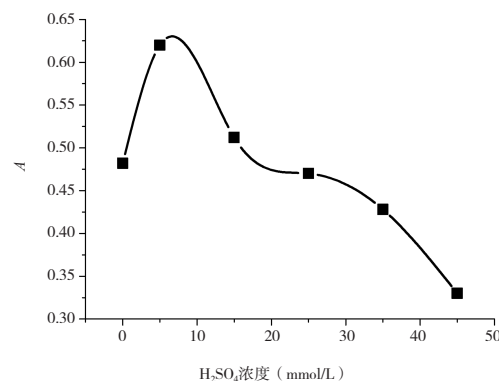


图3 H_2SO_4 浓度与 A 值的关系

Figure 3. The relationship between H_2SO_4 concentration and A value

2.5.3 反应时间的影响

设定 H_2O_2 的反应浓度为 0.10 mmol/L, 操作步骤同前。本研究进一步考察了 H_2O_2 与 Fe^{2+} 反应的最佳时间。在 H_2SO_4 介质中, H_2O_2 与 Fe^{2+} 反应迅速, 从图 4 可以看出, 反应进行 2 min 后 A 值已达到最大。为确保 H_2O_2 完全且彻底反应, 实际反应时间最终设定为 5 min。

2.5.4 SCN^- 反应浓度的考察

在 H_2O_2 反应浓度为 0.10 mmol/L、其他条件恒定的情况下, 试验考察了 SCN^- 反应浓度对体系 A 值的影响 (图 5)。结果显示, 显色液的 A 值随 SCN^- 浓度的增加呈线性增长; 当 SCN^- 浓度大于 0.01 mol/L 时, 线性关系逐渐变差; SCN^- 浓度大于 0.03 mol/L 后, A 值趋于稳定。为降低测量误差, 最终将 SCN^- 的反应浓度设定为 0.01 mol/L, 此时需加入 0.1 mol/L SCN^- 溶液 1.00 mL。

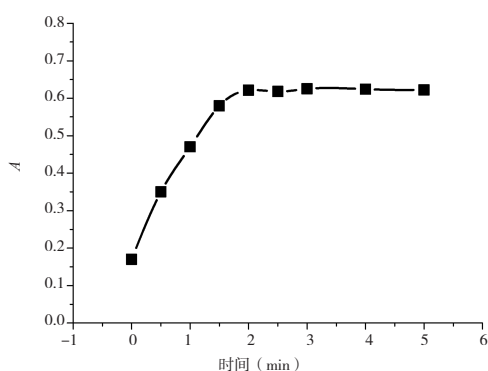


图4 反应时间的影响

Figure 4. The influence of reaction time

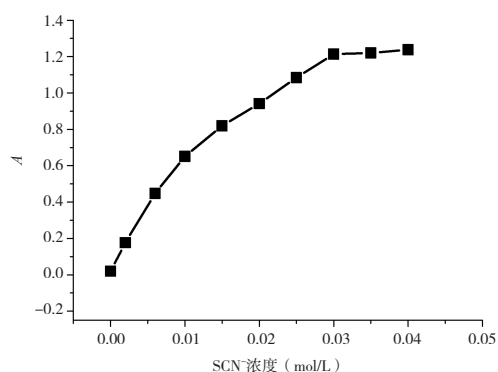


图5 SCN^- 反应浓度的影响

Figure 5. The influence of SCN^- reaction concentration

2.6 H_2O_2 工作曲线方程

取 11 支 10 mL 刻度比色管, 依次加入 0.01 mol/L H_2O_2 标准溶液 0.00、0.02、0.04、0.06、

0.08、0.10、0.12、0.14、0.16、0.18、0.20 mL, 各加入 0.5 mol/L H_2SO_4 溶液 0.10 mL 及 0.01 mol/L Fe^{2+} 溶液 1.00 mL, 室温反应 5 min 后随之加入 0.1 mol/L KSCN 溶液 1.00 mL, 用蒸馏水稀释并定容至刻度, 由此反应浓度分别为 0.00、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12、0.14、0.16、0.18、0.20 mmol/L 的 H_2O_2 标准系列, 于 458 nm 波长处测定各溶液的 A 值, 以 H_2O_2 浓度 (mmol/L) 为横坐标、 A 值为纵坐标进行线性拟合, 建立 H_2O_2 的工作曲线方程。

如图 6 所示, 在 0.01~0.20 mmol/L 浓度范围内, H_2O_2 浓度与显色液 A 值呈良好线性关系。根据工作曲线斜率计算得出 H_2O_2 的表观摩尔吸光系数为 6.151 4 L/(mmol·cm), 即反应液中 H_2O_2 浓度每降低 1 mmol/L, A 值相应减少 6.151 4。对 H_2O_2 空白体系进行 10 次平行测定, 标准偏差为 0.012。取 3 倍标准偏差除以工作曲线斜率, 计算得 H_2O_2 的检测限为 0.005 mmol/L。

2.7 酶分解反应条件设定

2.7.1 底物 H_2O_2 用量

图 6 结果显示, H_2O_2 在 0.01~0.20 mmol/L 浓度范围内与显色液 A 值呈线性关系。为降低测量误差并拓宽酶活性测定范围, 将底物 H_2O_2 的反应浓度设定为 0.20 mmol/L, 此时需加入 0.01 mol/L H_2O_2 溶液 0.20 mL。

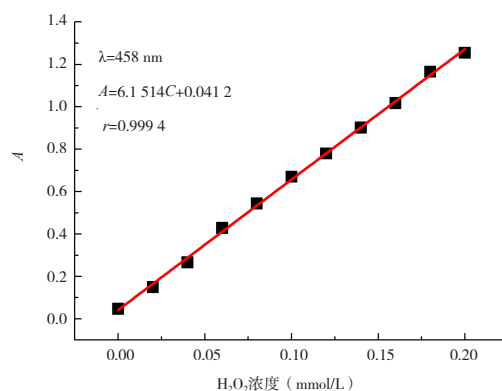


图6 显色液 A 值与 H_2O_2 浓度关系

Figure 6. The relationship between A value of colorimetric solution and H_2O_2 concentration

2.7.2 酶分解反应时间设定

CAT 活性反映了 H_2O_2 的分解量及酶催化反应的时间, 体现了酶促反应速率的大小, 因此酶分解反应时间的设定至关重要。取 300 U/L CAT 标准工作液 0.50 mL 作为测试液, 在仅改变酶分

解反应时间的条件下，按试验方法测定反应液 A 值，并计算酶分解反应前后的 ΔA 。图 7 结果显示， A 值随酶分解反应时间的延长而逐渐降低，并在 25 min 后趋于稳定；在反应初始阶段（0~10 min）， ΔA 与酶分解反应时间呈正比关系，符合酶反应动力学特征。因此，最终将酶分解反应时间设定为 10 min。

2.8 CAT检测范围和检测限

在 0.01~0.20 mmol/L 浓度范围内， H_2O_2 浓度与显色液 A 值呈线性关系，其检测限为 0.005 mmol/L。按酶活性计算公式计算，若酶分解反应时间设定为 10 min，待测酶液取样体积为 0.50 mL，则 CAT 活性的检测范围为 20~400 U/L，方法检测限为 10 U/L。

2.9 精密度试验

取标示活性为 300 U/L 的过氧化氢酶工作液 0.50 mL 作为测试液，按“2.3”项下方法进行测定，平行操作 6 次，计算得该 CAT 工作液活性

的实际测定值为 260.9 U/L，与标示值基本一致， RSD 为 0.32% ($n=6$)，结果表明基于 KSCN 显色光度法测定 CAT 活性具有较高的可信度。

2.10 干扰试验

在优化的测定条件下，通过考察常见共存离子及有机物的干扰效应，评估了本方法在生物样品 CAT 检测中的适用性。取 300 U/L CAT 工作液 0.50 mL 作为测试液，反应液中底物 H_2O_2 浓度设定为 0.2 mmol/L，通过添加不同剂量的干扰物质（相对于 H_2O_2 的量），进行酶活性回收率试验。结果如表 1 所示，常见共存离子（如 Ca^{2+} 、 Br^- 、 CO_3^{2-} 、 Cl^- 、 Na^+ 、 PO_4^{3-} ）对 CAT 测定无干扰，测定结果的相对误差均不超过 5%，表明该方法具有良好的选择性。同时，试验证实其他生物酶（如 3 000 U/L 葡萄糖氧化酶、3 000 U/L 淀粉酶等）对 CAT 活性测定亦无明显影响。生物组织样品中可能存在的谷胱甘肽虽可还原 H_2O_2 ，但其含量通常极低，该干扰可通过设置酶灭活空白进行消除。

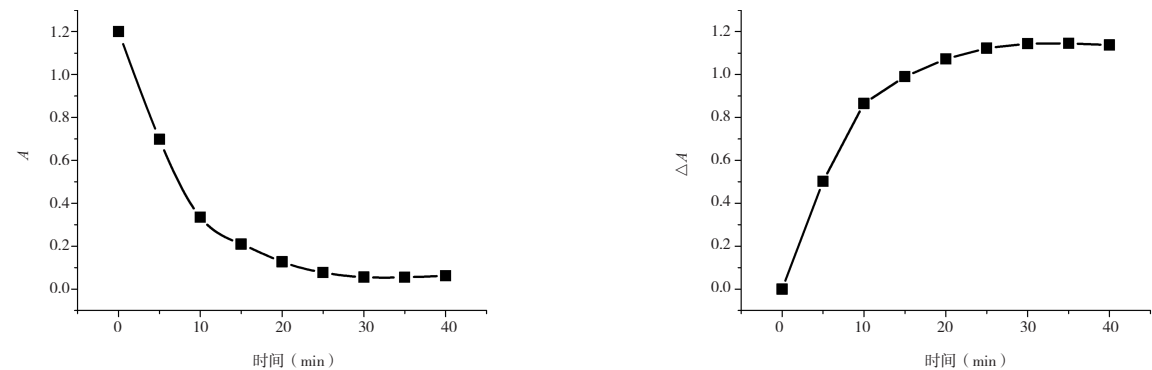


图7 酶分解反应时间考察
Figure 7. The investigation of enzyme decomposition reaction time

表1 设定干扰物质条件下CAT活性测定回收试验
Table 1. The recovery test for CAT activity determination under interference substance conditions

干扰物质	H_2O_2 : 干扰物质	测定值/ (U/L)	回收率 (%)	相对误差 (%)
—	—	259.4	—	—
Fe^{3+}	1 : 20	262.3	101.1	1.12
Ca^{2+}	1 : 500	261.5	100.8	0.81
Br^-	1 : 500	264.8	102.1	2.08
CO_3^{2-}	1 : 100	268.7	103.6	3.59
Cl^-	1 : 500	250.2	96.5	-3.55
Na^+	1 : 1 000	258.4	99.6	-0.39
Cu^{2+}	1 : 200	261.3	100.7	0.73
PO_4^{3-}	1 : 200	251.6	96.70	-3.01

2.11 样品分析与方法比较

取鲫鱼活体肝脏组织，称重后加入 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液，匀浆并定容至 0.1 g/L，随后 12.577 5 × g 离心 30 min。取上清液分装于多个

1 mL 塑料离心管中，经速冻处理后保存，使用前解冻。

分别采用显色法、碘量法（通过间接碘量法测定加酶前后 H_2O_2 的减少量）^[3] 和高锰酸钾

法(以高锰酸钾为标准溶液测定加酶前后 H_2O_2 的减少量)^[3] 定量测定鲫鱼肝脏样品中的酶活性(采用显色法测定时,需将解冻样品用超纯水稀释 10 倍,每次取 0.50 mL 进行测定)。结果显示,显色法、碘量法和高锰酸钾法测得的酶活性分别为: $(3\,254 \pm 52)$ 、 $(3\,316 \pm 112)$ 、 $(3\,208 \pm 157)$ U/L, *RSD* 分别为 1.63%、2.57% 和 3.32% ($n=6$)。3 种方法测定结果基本一致,显色法精密度更小。

3 讨论

本文依据 CAT 分解 H_2O_2 , 强酸环境下过剩 H_2O_2 与 Fe^{2+} 发生反应生成 Fe^{3+} , $\text{Fe}^{3+}/\text{SCN}^-$ 配合物在 458 nm 处有最大吸收的现象建立了一种测定 CAT 活性的新方法。CAT 活性的检测范围为 20~400 U/L, 方法检测限为 10 U/L; 方法的选择性好, 抗干扰能力强。常见共存离子(如 Ca^{2+} 、 Br^- 、 CO_3^{2-} 、 Cl^- 、 Na^+ 、 PO_4^{3-})对 CAT 测定无干扰, 测定结果的相对误差均不超过 5%, 其他生物酶(如 3 000 U/L 葡萄糖氧化酶、3 000 U/L 淀粉酶等)对 CAT 活性测定亦无明显影响; 与碘量法、高锰酸钾法作比较, 测定结果基本一致, 新方法表现出更好的精密度; 试剂稳定且易保存, 测试成本低, $\text{SCN}^-/\text{Fe}^{2+}$ 不反应, SCN^- 、 Fe^{2+} 、 H_2SO_4 三者可混合处。本方法上述优势可为后续 CAT 试剂盒的研发提供可能。

参考文献

- 1 陆灿, 姜翠玲, 冯亚坤, 等. 两种沉水植物对聚乳酸微塑料胁迫的生长和生理响应[J]. 环境科学学报, 2024, 44(1): 378–385. [Lu C, Jiang CL, Feng YK, et al. Growth and physiological response of two submerged plants to polylactic acid microplastic stresses[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2024, 44(1): 378–385.] DOI: 10.13671/j.hjkxb.2024.0216.
- 2 祁伟亮, 李梦, 乔义林, 等. 外源 H_2O_2 对甘蓝型油菜生长发育的影响[J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(5): 46–51. [Qi WL, Li M, Qiao YL, et al. Effects of exogenous H_2O_2 on the growth and development of *Brassica napus* L.[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2024, 43(5): 46–51.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-9690.2024.05.007.
- 3 王金亭, 方俊, 主编. 生物化学实验教程. 第 2 版[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2020: 137–139.
- 4 孙岑岑, 方瑜, 董伟仁, 等. 鲁米诺化学发光的过氧化氢酶活性测定系统[J]. 实验室研究与探索, 2023, 42(8): 1–4, 19. [Sun CC, Fang Y, Dong WR, et al. Luminol chemiluminescence catalase activity determination system[J]. Research and Exploration in Laboratory, 2023, 42(8): 1–4, 19.] DOI: 10.19927/j.cnki.syyt.2023.08.001.
- 5 李花, 白莹, 张爱菊, 等. H_2O_2 -OPD- Fe^{2+} 体系催化荧光光度法测定过氧化氢酶活性[J]. 化学研究与应用, 2022, 34(11): 2740–2744. [Li H, Bai Y, Zhang AJ, et al. Determination of catalase activity by cataytic spectrophotofluorimetry based on H_2O_2 -OPD- Fe^{2+} system[J]. Chemical Research and Application, 2022, 34(11): 2740–2744.] DOI: 10.3969/j.issn.1004-1656.2022.11.019.
- 6 张俊杰, 蔡长春, 曹景林, 等. 紫外分光光度法测定烟苗过氧化氢酶活性[J]. 亚热带资源与环境学报, 2023, 18(4): 27–33. [Zhang JJ, Cai CC, Cao JL, et al. Determining the catalase activity in Tobacco seedlings by ultraviolet spectrophotometry[J]. Journal of Subtropical Resources and Environment, 2023, 18(4): 27–33.] DOI: 10.19687/j.cnki.1673-7105.2023.04.004.
- 7 王群, 刘朝巍, 徐文娟. 紫外分光光度法测定玉米过氧化氢酶活性新进展[J]. 中国农学通报, 2016, 32(15): 159–165. [Wang Q, Liu ZW, Xu WJ. Ultraviolet spectrophotometry measurement of catalase activity in maize[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32(15): 159–165.] DOI: CNKI:SUN:ZNTB.0.2016-15-029.
- 8 Farman AA, Hadwan MH. Simple kinetic method for assessing catalase activity in biological samples[J]. MethodsX, 2021, 8: 101434. DOI: 10.1016/j.mex.2021.101434.
- 9 董娜, 张爱菊, 白莹, 等. 二苯胺磺酸钠催化动力光度法测定过氧化氢酶活性[J]. 中国食品添加剂, 2018, (10): 179–183. [Dong N, Zhang AJ, Bai Y, et al. Measurement of catalase activity by sodium diphenylamine sulfonate catalytic-kinetic photometry[J]. China Food Additives, 2018, (10): 179–183.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-2513.2018.10.020.
- 10 董娜, 张爱菊, 张小林. Fe^{2+} -催化邻苯二胺显色光度法测定血清过氧化氢酶活性[J]. 分析试验室, 2020, 39(12): 1435–1438. [Dong N, Zhang AJ, Zhang XL. Spectrophotometric determination of catalase activity in serum with Fe^{2+} -catalyzed o-phenylenediamine[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2020, 39(12): 1435–1438.] DOI: 10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2020.041901.
- 11 董娜, 赵红强, 张作瑞, 等. 四甲基联苯胺显色测定过氧化氢酶活性[J]. 化学研究与应用, 2021, 33(4): 720–725. [Dong N, Zhao HQ, Zhang ZR, et al. Determination of catalase activity by tetramethylbenzidine spectrophotometric method[J]. Chemical Research and Application, 2021, 33(4): 720–725.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/hxyjyy202104019>.
- 12 Correction to: an improved method for measuring catalase activity in biological samples[J]. Biol Methods Protoc, 2024, 9(1): bpae025. DOI: 10.1093/biomethods/bpae025.
- 13 刘砚韬, 王振伟, 张伶俐. 过氧化氢酶活性测定的新方法[J]. 华西药学杂志, 2013, 28(4): 403–405. [Liu YT, Wang ZW, Zhang LL. A novel method for the assaying catalase activity[J]. West China Journal of Pharmaceutical Science, 2013, 28(4): 403–405.] DOI: 10.13375/j.cnki.wejps.2013.04.032.
- 14 张红, 于亚辉, 张秀艳, 等. 硫氰酸钾和 1,10-二氮杂菲分

- 光光度法测定高纯氧氯化锆中痕量铁[J]. 冶金分析, 2023, 43(12): 73–77. [Zhang H, Yu YH, Zhang XY, et al. Determination of trace iron in high purity zirconium oxychloride by potassium thiocyanate and 1,10-phenanthroline spectrophotometry[J]. Metallurgical Analysis, 2023, 43(12): 73–77.] DOI: [10.13228/j.boyuan.issn1000-7571.012158](https://doi.org/10.13228/j.boyuan.issn1000-7571.012158).
- 15 曾远娴, 王轩, 黄慧玲, 等. 硫氰酸钾分光光度法快速测定多维铁口服液的铁含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(16): 4363–4368. [Zeng YX, Wang X, Huang HL, et al. Rapid determination of iron content in multidimensional iron oral solution by potassium thiocyanate spectrophotometry[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(16): 4363–4368.] DOI: [10.3969/j.issn.2095-0381.2018.16.028](https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-0381.2018.16.028).
- 16 李翠英. 硫氰酸盐分光光度法测定铁强化营养盐中铁的试验方法研究[J]. 中国井矿盐, 2010, 41(1): 33–35. [Li CY. Research on testing method of the determination of the iron in iron-fortified salt by spectrophotometry with thiocyanate salt[J]. China Well and Rock Salt, 2010, 41(1): 33–35.] DOI: [10.3969/j.issn.1001-0335.2010.01.011](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-0335.2010.01.011).
- 17 尚尔坤, 田然, 马丽媛, 等. 4种分光光度法测定铁含量的对比分析[J]. 食品工业, 2013, 34(10): 223–225. [Shang EK, Tian R, Ma LY, et al. Comparative analysis of four spectrophotometric methods for determining iron content[J]. The Food Industry, 2013, 34(10): 223–225.] DOI: [CNKI:SUN:SPGY.0.2013-10-076](https://doi.org/CNKI:SUN:SPGY.0.2013-10-076).
- 18 张金, 郭亚萍. KSCN分光光度法测定 Fe^{3+} 条件研究[J]. 广东化工, 2017, 44(11): 274–275. [Zhang J, Guo YP. Study on the determination of Fe^{3+} by potassium thiocyanate spectrophotometry[J]. Guangdong Chemical Industry, 2017, 44(11): 274–275.] DOI: [10.3969/j.issn.1007-1865.2017.11.130](https://doi.org/10.3969/j.issn.1007-1865.2017.11.130).
- 收稿日期: 2025年03月25日 修回日期: 2025年08月06日
本文编辑: 钟巧妮 李 阳