

土壤木质素过氧化物酶 (Soil lignin peroxidase, S-Lip) 试剂盒说明书

微量法 100T/48S

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：

木质素过氧化物酶 (EC1.11.1.14) 是一种含亚铁血红素的过氧化物酶, 属于木质素降解酶系, 在木质素生物降解、造纸工业、纺织工业、芳香化合物转化与降解及环境污染控制等方面具有较大的应用潜力。

测定原理：

木质素过氧化物酶氧化藜芦醇生成藜芦醛, 在 310nm 处有特征吸收峰。

自备实验用品及仪器：

天平、低温离心机、紫外分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板 (UV 板)。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 25mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂二：液体 15mL×1 瓶, 4℃ 避光保存。

试剂三：液体 10mL×1 瓶, 4℃ 保存。

样品处理：

新鲜土样风干, 过 30-50 目筛。

测定操作：

	对照管	测定管
土样 (g)	0.04	0.04
甲苯 (μL)	30	30
25℃ 静置 15min		
试剂一 (μL)		200
蒸馏水 (μL)	200	
试剂二 (μL)	120	120
试剂三 (μL)	80	80
30℃ 震荡反应 3h, 冰浴 5min, 12000g, 4℃ 离心 10min, 取上清 200μL, 于微量石英比色皿/96 孔板(UV)板, 测定 310nm 处吸光值, 分别记为 A 对照和 A 测定, $\Delta A = A_{测定} - A_{对照}$		

酶活计算公式：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

酶活性定义：每克土壤每天氧化 1nmol 藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$S-Lip \text{ 活性 (nmol/d/g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{反总} \div W \div T = 344 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; V 反总: 反应总体积, 0.4mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 3h

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

酶活性定义: 每克土壤每天氧化 1nmol 藜芦醇所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{S-LiP 活性 (nmol/d/g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V \text{ 反总} \div W \div T = 688 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm; d : 比色皿光径, 0.5cm; V 反总: 反应总体积, 0.4mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 3h