

## 土壤锰过氧化物酶（Soil manganese peroxidase, S-Mnp）试剂

### 盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

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

锰过氧化物酶（EC1.11.1.13）是一种含亚铁血红素的过氧化物酶，主要存在于担子菌中，属于木质素降解酶系，能有效的降解木质素及废水和土壤中比较难降解的氯化物，叠氮化合物、DTT，多环芳烃等。

#### 测定原理

锰过氧化物酶在  $Mn^{2+}$  存在的条件下，将愈创木酚氧化为四邻甲氧基连酚，在 465nm 有特征吸收峰。

#### 自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿、震荡仪、甲苯。

#### 试剂组成和配制

试剂一：液体 30mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂三：液体 10mL×1 瓶，4℃ 避光保存。

试剂四：液体 5mL×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)	0.1	0.1
甲苯 (μL)	50	50
25℃，静置 15min		
试剂一 (μL)	700	600
试剂二 (μL)		100
试剂三 (μL)	200	200
试剂四 (μL)	100	100
充分混匀，于 30℃ 震荡反应 3h，于 10000rpm，4℃ 离心 10min，取 800 μL 于 1mL 玻璃比色皿，测定 465nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管， $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管}$		

#### 酶活计算公式

酶活性定义：每克土壤每分钟氧化 1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$S-MnP \text{ 活性 (nmol/min/g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 8.3 \times \Delta A \div W$$

$\epsilon$ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反应}}$ : 反应总体积, 1mL;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ : 反应时间, 10min