

土壤木质素过氧化物酶（Soil lignin peroxidase, S-Lip）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

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、1 mL 石英比色皿、震荡仪、甲苯。

试剂组成和配制

试剂一：液体 25mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂二：液体 25mL×1 瓶, 4℃ 避光保存。

试剂三：液体 20mL×1 瓶, 4℃ 保存。

样品处理

新鲜土样风干, 过 30-50 目筛。

测定操作（在 2mL EP 管中依次加入下列试剂）

	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)		750
蒸馏水 (μL)	750	
试剂二 (μL)	450	450
试剂三 (μL)	300	300
30℃ 震荡反应 3h, 冰浴 5min, 12000g, 4℃ 离心 10min, 取上清 800μL, 于 1mL 石英比色皿, 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

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。

$$S-LiP \text{ 活性 (nmol/d/g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 1333 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; V 反应: 反应总体积, 1.55mL;

W: 样本质量, g; T: 反应时间, 3h