

## 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（ $\mu\text{L}$ ）	30	30
25℃ 静置 15min		
试剂一（ $\mu\text{L}$ ）		200
蒸馏水（ $\mu\text{L}$ ）	200	
试剂二（ $\mu\text{L}$ ）	120	120
试剂三（ $\mu\text{L}$ ）	80	80

30℃ 震荡反应 3h，冰浴 5min，12000g，4℃ 离心 10min，取上清 200 $\mu\text{L}$ ，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， $\Delta A = A \text{ 测定} - A \text{ 对照}$

#### 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。



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

$\varepsilon$ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反应}}$ : 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。

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

$\varepsilon$ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 0.5cm;  $V_{\text{反应}}$ : 反应总体积, 0.4mL;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ : 反应时间, 3h