

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

(货号:G0331F 紫外分光法 24 样)

一、产品简介:

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。

土壤木质素过氧化物酶 (S-LiP) 氧化藜芦醇生成藜芦醛, 藜芦醛在 310nm 处有特征吸收峰。通过测定 310nm 处的藜芦醛的增加速率, 即可得到 S-LiP 酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	二 A: 液体 μL ×1 支 二 B: 空瓶×1 瓶	4°C保存	临用前甩几下 EP 管 (二 A) 使液体落入底部, 再向 EP 管中加入 0.5mL 蒸馏水混匀溶解, 全部转移至空瓶 B 中, 再向 EP 管中加入 0.5mL 蒸馏水涮洗后全部转移至 B 瓶中 (可分别再用 0.5mL 蒸馏水涮洗 EP 管 2 次), 最后再加 6.73mL 蒸馏水混匀后做为试剂二待用 (加入蒸馏水总体积为 8.73mL); 用不完的试剂 4°C保存。
试剂三	液体 μL ×1 支	4°C保存	临用前甩几下使液体落入底部, 取 2 个新的 EP 管, 每管取 3.3 μL 液体, 再加 2mL 蒸馏水混匀备用。

三、所需的仪器和用品:

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿 (光径 1cm)、天平、低温离心机、天平、空气浴/恒温振荡培养箱、甲苯。

四、土壤木质素过氧化物酶 (S-Lip) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过粗细两次筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 紫外分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 310nm, 蒸馏水调零。

② 所有试剂至室温 (25°C) 或于 25°C 水浴条件下孵育 15-30min。

③ 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
甲苯	30	30
25°C 静置 15min		
试剂一	570	
蒸馏水		570
试剂二	120	120

试剂三	80	80
30°C震荡（空气浴）反应 3h, 12000rpm, 4°C离心 10min, 取全部上清液移至 1mL 石英比色皿中, 于 310nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

【注】若 ΔA 值小于0.01, 可加大土壤样本量 W 或者延长反应时间 T (如由 3h 增加至 6h 后测定), 则改变后的 W 和 T 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

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

S-LiP 活性(nmol/d/g 土样) = $(\Delta A \div \epsilon \div d) \times 10^9 \times V \div W \div T = 688.2 \times \Delta A \div W$

ϵ ---藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm;

d---比色皿光径, 1cm;

V---反应总体积, 0.8mL = 0.8×10^{-3} L;

W---样本质量, g;

T---反应时间, 3h = 1/8d。