

土壤木质素过氧化物酶 (S-Lip) 活性检测试剂盒说明书

微量法

货号: AC10368

规格: 100T/48S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|--------------|-------|
| 试剂一 | 液体 25 mL×1 瓶 | 4°C保存 |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 4°C保存 |
| 试剂三 | 液体 10 μL×1 瓶 | 4°C保存 |

溶液的配制:

1. 试剂二: 临用前加入6 mL乙醇溶解, 将试剂二用乙醇稀释10倍备用, 用多少配多少。
2. 试剂三: 液体置于试剂瓶内 EP 管中。临用前加入 5 mL 蒸馏水备用。

产品说明:

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。

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。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

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UV板、震荡仪、研钵、甲苯、乙醇、30-50目筛、蒸馏水。

操作步骤:**一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)**

新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干, 过 30~50 目筛。

二、测定步骤

1. 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上, 波长调至310nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定:

| | 测定管 | 对照管 |
|----------------------|------|------|
| 土样 (g) | 0.03 | 0.03 |
| 甲苯 (μL) | 15 | 15 |
| 室温静置15min。 | | |
| 试剂一 (μL) | 240 | 240 |
| 试剂二 (μL) | 30 | - |
| 试剂三 (μL) | 15 | - |
| 30°C水浴反应1h后立刻煮沸5min。 | | |

| | | |
|---|---|----|
| 试剂二 (μL) | - | 30 |
| 试剂三 (μL) | - | 15 |
| 14000g常温离心10min。取200μL上清于微量石英比色皿中或96孔UV板中测定310nm处的吸光值，分别记为A测定管、A对照管，计算ΔA=A测定管-A对照管。 | | |

三、酶活计算公式

A、按微量石英比色皿计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活力单位。

$$S\text{-LiP活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.538 \times \Delta A \div W$$

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，0.3mL=3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，60min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

B、按96孔UV板计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活力单位。

$$S\text{-LiP活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 0.896 \times \Delta A \div W$$

ε：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；V反总：反应总体积，0.3mL=3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，60min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

实验实例：

1、称取两份 0.03g 土样于 1.5mLEP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，用微量石英比色皿测得计算 ΔA=A 测定管-A 对照管=1.3831-0.9924=0.3907，按土样重量计算酶活得：

$$S\text{-LiP 活性 (U/g 土样)} = 0.538 \times \Delta A \div W = 0.538 \times 0.3907 \div 0.03 = 7.007 \text{ U/g 土样。}$$

2、称取两份 0.03g 三叶草土样于 1.5mLEP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，用微量石英比色皿测得计算 ΔA=A 测定管-A 对照管=1.399-0.9924=0.4066，按土样重量计算酶活得：

$$S\text{-LiP 活性 (U/g 土样)} = 0.538 \times \Delta A \div W = 0.538 \times 0.4066 \div 0.03 = 7.292 \text{ U/g 土样。}$$