

土壤木质素过氧化物酶 (S-Lip) 活性检测试剂盒说明书

紫外分光光度法

货号: AC10367

规格: 50T/24S

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 40 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5 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、1mL石英比色皿、震荡仪、甲苯、乙醇、30-50目筛、研钵、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)	0.1	0.1
甲苯 (μL)	50	50
室温静置15min。		
试剂一 (μL)	800	800
试剂二 (μL)	100	-
试剂三 (μL)	50	-
30°C水浴反应1h后立刻煮沸5min。		

试剂二 (μL)	-	100
试剂三 (μL)	-	50
12000g常温离心10min, 取上清于310nm处测定吸光值, 分别记为A测定管、A对照管, 计算 $\Delta A=A$ 测定管-A对照管。		

三、酶活计算公式

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。

$$S\text{-LiP 活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 1.792 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm; d : 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反应}}$: 反应总体积, 1mL=0.001L; W : 土样质量, g; T : 反应时间, 60min; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol。

实验实例:

- 1、称取两份 0.1g 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, 测得计算 $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管=1.393-1.012=0.381, 按土样质量计算酶活得:

$$S\text{-LiP 活性 (U/g 土样)} = 1.792 \times \Delta A \div W = 1.792 \times 0.381 \div 0.1 = 6.828 \text{ U/g 土样。}$$

- 2、称取两份 0.1g 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, 测得计算 $\Delta A=A$ 测定管-A 对照管=1.296-0.963=0.333, 按土样质量计算酶活得:

$$S\text{-LiP 活性 (U/g 土样)} = 1.792 \times \Delta A \div W = 1.792 \times 0.333 \div 0.1 = 5.967 \text{ U/g 土样。}$$