

## 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， $\Delta A=A$ 测定- A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。

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

$\epsilon$ : 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, 0.4mL; 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。

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

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