

土壤锰过氧化物酶（Soil manganese peroxidase, S-Mnp）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

锰过氧化物酶（EC1.11.1.13）是一种含亚铁血红素的过氧化物酶，主要存在于担子菌中，属于木质素降解酶系，能有效的降解木质素及废水和土壤中比较难降解的氯化物，叠氮化合物、DTT，多环芳烃等。

测定原理

锰过氧化物酶在Mn²⁺存在的条件下，将愈创木酚氧化为四邻甲氧基连酚，在465nm有特征吸收峰。

自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板、震荡仪、甲苯。

试剂组成和配制

试剂一：液体12mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体2mL×1支，4℃保存。

试剂三：液体4mL×1瓶，4℃避光保存。

试剂四：液体2mL×1支，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（mg）	40	40
甲苯（μL）	30	30
25℃，静置15min		
试剂一（μL）	140	120
试剂二（μL）		20
试剂三（μL）	40	40
试剂四（μL）	20	20

充分混匀，于30°C震荡反应3h，于10000rpm，4°C离心10min，取150μL于微量石英比色皿/96孔板，测定465nm处吸光值，记为A对照管和A测定管， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$

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愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{S-MnP活性 (nmol/d /g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 66.4 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; 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愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{S-MnP活性 (nmol/d /g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 132.8 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm; d: 比色皿光径, 0.5cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.2mL; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 3h