

土壤木质素过氧化物酶 (S-Lip) 试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR024 微板法 48 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4°C 保存	
试剂二	液体 1 瓶	4°C 避光保存	1. 开盖前注意使试剂落入底部 (可手动甩一甩); 2. 加入 8.73mL 蒸馏水混匀备用; 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂三	液体 1 支	4°C 避光保存	1. 临用前 8000g 4° C 离心 2min 使试剂落入管底; 2. 取两个新的 EP 管, 每管取 16.5 μL 液体, 再加 1987 μL 蒸馏水混匀备用; 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅 (烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板 (UV 板)、离心管、酶标仪、甲苯、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

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; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、检测步骤:

- ① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 310nm。
- ② 所有试剂至常温 (25°C) 状态。
- ③ 在 EP 管中依次加入:

试剂组分 (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	200	
蒸馏水		200
试剂二	60	60
试剂三	40	40
30°C震荡 (空气浴) 反应 3h, 12000rpm, 4°C离心 10min, 取上清 200μL 移至 96 孔板中, 于 310nm 处读取吸光值 A, ΔA=A 测定-A 对照 (每个样本做一个自身对照)。		

【注】若 ΔA 值较低, 可加大土壤样本量或者延长反应时间, 则改变后的样本质量 W 和反应时间 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。

$$S\text{-LiP 活性}(\text{nmol/d/g 土样})=(\Delta A \div \epsilon \div d) \times 10^9 \times V \div W \div T = 567.7 \times \Delta A \div W$$

ε---藜芦醛摩尔消光系数: 9300L/mol/cm;

d---比色皿光径, 0.5cm;

V---反应总体积, 0.33mL=0.33×10⁻³L;

W---样本质量, g;

T---反应时间, 3h=1/8d。