

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

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1975

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存

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。

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、移液器、水浴锅、震荡仪、研钵、甲苯（> 98%，AR）、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℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，波长调至310nm，紫外分光光度计蒸馏水调零。
- 样本测定（在1.5mL EP管中依次加入以下试剂）：

	对照管	测定管
土样（g）	0.04	0.04
甲苯（μL）	30	30
充分混匀，室温静置15min		
试剂一（μL）	-	200
蒸馏水	200	-
试剂二（μL）	120	120
试剂三（μL）	80	80





充分混匀，30℃振荡反应3h，冰浴5min，12000g 4℃离心10min，小心取200μL上清液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、A对照，计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

注：若上清液不澄清可将上清液全部取出，再次离心后吸取200μL上清液测定。

三、酶活计算公式

A、按微量石英比色皿计算：

酶活性定义：每克土壤每小时生成1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活性单位。

$$\text{S-LiP 活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 15.412 \times \Delta A \div W$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数，9300L/mol/cm；d：微量石英比色皿光径，1cm；V反总：反应总体积，0.43mL=4.3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，3h；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

B、按96孔UV板计算：

酶活性定义：每克土壤每小时生成1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活性单位。

$$\text{S-LiP 活性 (U/g 土样)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 25.687 \times \Delta A \div W$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数，9300L/mol/cm；d：96孔UV板光径，0.6cm；V反总：反应总体积，0.43mL=4.3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，3h；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

实验实例：

- 1、称取两份 0.04g 槐树土土样于 EP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板测得 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 1.069 - 0.374 = 0.695$ ，按土样质量计算酶活得：

$$\text{S-LiP 活性 (U/g 土样)} = 25.687 \times \Delta A \div W = 25.687 \times 0.695 \div 0.04 = 446.312 \text{ U/g 土样。}$$

- 2、称取两份 0.04g 冬青土土样于 EP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.424 - 0.185 = 0.239$ ，按土样质量计算酶活得：

$$\text{S-LiP 活性 (U/g 土样)} = 25.687 \times \Delta A \div W = 25.687 \times 0.239 \div 0.04 = 153.480 \text{ U/g 土样。}$$

相关系列产品：

BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶（S-PPO）活性检测试剂盒

BC0120/BC0125 土壤脲酶（S-UE）活性检测试剂盒

BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶（S-SC）活性检测试剂盒

