

土壤木质素过氧化物酶（S-Lip）试剂盒说明书

（货号：BP10098W 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℃保存	
试剂二	液体 1 瓶	4℃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℃避光保存	1. 临用前 8000g 4℃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℃）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, $\Delta A=A$ 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。