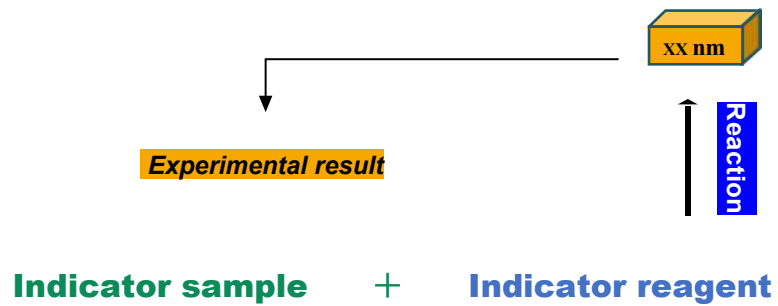


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

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：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

试剂的组成和配制：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体25mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体×1瓶	4℃避光保存	临用前加入6mL乙醇溶解
试剂三	液体 10μL×1 瓶	4℃保存	临用前加入 5mL 蒸馏水备用

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。

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UV板、震荡仪、甲苯、乙醇、30-50目筛（或更小）、蒸馏水

操作步骤：

一、样本处理：

土样自然风干，过30-50目筛。

二、测定步骤：

1、紫外分光光度计/酶标仪预热30min以上，波长调至310nm，蒸馏水调零。

2、将试剂二用乙醇稀释10倍备用，用多少配多少。

	测定管	对照管
土样（g）	0.03	0.03
甲苯（μL）	15	15
室温静置15min。		
试剂一（μL）	240	240
试剂二（μL）	30	-
试剂三（μL）	15	-
30℃水浴反应1h后立刻煮沸5min。		
试剂二（μL）	-	30
试剂三（μL）	-	15

14000g 常温离心10min。取200μL上清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测定管、A对照管，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。

三、酶活计算公式

1 按微量石英比色皿计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{S-LiP 活性 (U/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.538 \times \Delta A \div W$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V反应：反应总体积，0.3mL=3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，60min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。

2 按96孔UV板计算：

酶活性定义：每克土壤每分钟生成1nmol 藜芦醛所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{S-LiP 活性 (U/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.896 \times \Delta A \div W$$

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，0.6cm；V反应：反应总体积，0.3mL=3×10⁻⁴L；W：土样质量，g；T：反应时间，60min；10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol。