

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0555

Size: 100T/48S

土壤木质素过氧化物酶 (S-Lip) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

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。

二、测定原理:

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。

三、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 孔板 (ZC-1036: UV 板)、震荡仪、甲苯、乙醇、30-50 目筛 (或更小)、蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

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

五、操作步骤:

●样本处理:

土样自然风干, 过 30-50 目筛。

●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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

六、酶活计算公式

●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。

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

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm； $V_{\text{反应}}$ ：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。

●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。

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

ϵ ：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，0.6cm； $V_{\text{反总}}$ ：反应总体积，0.3mL= 3×10^{-4} L；W：土样质量，g；T：反应时间，60min； 10^9 ：单位换算系数，1mol= 10^9 nmol。