Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 400-968-6088
Fax: 010-56371281
Http://www.solarbio.com

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 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 μL×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前取1瓶加入2.5mL乙醇溶解，用不完的试剂可以2-8℃保存2周，实验前再将试剂二用乙醇稀释10倍备用，用多少配多少。（1瓶粉剂溶解后可做100T，为了延长使用时间，此产品多给1瓶粉剂）
2. 试剂三：使用前请离心再用。取 2μL 试剂三加入 1mL 蒸馏水充分混合备用（约 66T 的量），现用现配，也可根据样本量按比例配制。

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。

$$\text{Veratrol} \xrightarrow{\text{S-Lip}} \text{Veratraldehyde (310 nm)}$$

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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

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、水浴锅、震荡仪、研钵、甲苯（不允许快递）、乙醇（不允许快递）、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

1. 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。
2. 样本测定：

	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
12000g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ΔA=A测定管-A对照管。		

三、酶活计算公式

A、按微量石英比色皿计算：

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

S-LiP活性（U/g 土样）=ΔA÷(ε×d) ×10^9×V反总÷W÷T=0.538×ΔA÷W

ε：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V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=10^9nmol。

B、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。

S-LiP活性（U/g 土样）=ΔA÷(ε×d) ×10^9×V反总÷W÷T=0.896×ΔA÷W

ε：藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；V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=10^9nmol。

实验实例：

1、 称取两份 0.03g 土样于 1.5mLEP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，用微量石英比色皿测得计算 ΔA=A 测定管-A 对照管=1.3831-0.9924=0.3907，按土样重量计算酶活得：

S-LiP 活性（U/g 土样）=0.538×ΔA÷W=0.538×0.3907÷0.03=7.007 U/g 土样。

2、 称取两份 0.03g 三叶草土样于 1.5mLEP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，用微量石英比色皿测得计算 ΔA=A 测定管-A 对照管=1.399-0.9924=0.4066，按土样重量计算酶活得：

S-LiP 活性（U/g 土样）=0.538×ΔA÷W= 0.538×0.4066÷0.03=7.292 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