

土壤木质素过氧化物酶（Soil lignin peroxidase, S-Lip）试剂盒说明书

（紫外分光法 24 样）

一、产品简介：

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：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体μL×1 瓶	4℃保存	临用前用前甩几下使液体落入底部，再加 8.73mL 蒸馏水混匀备用。
试剂三	液体μL×1 支	4℃保存	临用前用前甩几下使液体落入底部，取 2 个新的 EP 管，每管取 3.3μL 液体，再加 2mL 蒸馏水混匀备用。

三、所需的仪器和用品：

紫外分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、天平、低温离心机、天平、空气浴/恒温震荡培养箱、甲苯。

四、土壤木质素过氧化物酶（S-Lip）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干，先粗研磨，过 40 目筛，再次研磨过 60 目筛网，备用。

【注】：土壤风干，减少土壤中水分对于实验的干扰；土壤过粗细两次筛，保证取样的均匀细腻；

2、上机检测：

- ① 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 310nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂至常温（25℃）状态。
- ③ 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
土样（g）	0.1	0.1
甲苯	30	30
25℃静置 15min		
试剂一	570	
蒸馏水		570
试剂二	120	120
试剂三	80	80
30℃震荡（空气浴）反应 3h，12000rpm，4℃离心 10min，取全部上清液移至 1mL 石英比色皿中，于 310nm 处读取吸光值 A， ΔA=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 W 或者延长反应时间 T，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。

$$\text{S-LiP 活性 (nmol/d/g 土样)} = (\Delta A \div \epsilon \div d) \times 10^9 \times V \div W \div T = 688.2 \times \Delta A \div W$$

ϵ ---藜芦醛摩尔消光系数：9300L/mol/cm；

d---比色皿光径，1cm；

V---反应总体积，0.8mL=0.8×10⁻³L；

W---样本质量，g；

T---反应时间，3h=1/8d。