

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

（微板法 48 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 10mL×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：

酶标仪、96 孔板（UV 板）、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、上机检测：

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	200	
蒸馏水		200
试剂二	60	60
试剂三	40	40
30℃震荡（空气浴）反应 3h，12000rpm，4℃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-LiP 活性(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 $\times 10^{-3}$ L；

W---样本质量，g；

T---反应时间，3h=1/8d。