

## 土壤锰过氧化物酶 (Soil manganese peroxidase, S-MnP) 试剂

### 盒说明书

微量法 100T/48S

**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。

#### 测定意义

锰过氧化物酶 (EC1.11.1.13) 是一种含亚铁血红素的过氧化物酶, 主要存在于担子菌中, 属于木质素降解酶系, 能有效的降解木质素及废水和土壤中比较难降解的氯化物, 叠氮化合物、DTT, 多环芳烃等。

#### 测定原理

锰过氧化物酶在  $Mn^{2+}$  存在的条件下, 将愈创木酚氧化为四邻甲氧基连酚, 在 465nm 有特征吸收峰。

#### 自备实验用品及仪器

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、震荡仪、甲苯。

#### 试剂组成和配制

试剂一: 液体 12mL×1 瓶, 4℃ 保存。

试剂二: 液体 2mL×1 支, 4℃ 保存。

试剂三: 液体 4mL×1 瓶, 4℃ 避光保存。

试剂四: 液体 2mL×1 支, 4℃ 保存。

#### 样品处理

新鲜土样风干, 过 30-50 目筛。

#### 测定操作

	对照管	测定管
土样 (mg)	40	40
甲苯 ( $\mu$ L)	30	30
25℃, 静置 15min		
试剂一 ( $\mu$ L)	140	120
试剂二 ( $\mu$ L)		20
试剂三 ( $\mu$ L)	40	40
试剂四 ( $\mu$ L)	20	20
充分混匀, 于 30℃ 震荡反应 3h, 于 10000rpm, 4℃ 离心 10min, 取 150 $\mu$ L 于微量石英比色皿/96 孔板, 测定 465nm 处吸光值, 记为 A 对照管和 A 测定管, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$		

#### 酶活计算公式

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

**酶活性定义：**每克土壤每天氧化 1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$S\text{-MnP 活性 (nmol/d/g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 66.4 \times \Delta A \div W$$

$\epsilon$ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 1cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 0.2mL;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ : 反应时间, 3h

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

**酶活性定义：**每克土壤每天氧化 1nmol 愈创木酚所需的酶量为一个酶活力单位。

$$\text{S-MnP 活性 (nmol/d/g 土样)} = \frac{\Delta A}{\varepsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 132.8 \times \Delta A \div W$$

$\varepsilon$ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm;  $d$ : 比色皿光径, 0.5cm;  $V_{\text{反总}}$ : 反应总体积, 0.2mL;  $W$ : 样本质量, g;  $T$ : 反应时间, 3h