

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

说明书

分光光度法 50 管/24 样

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 Mn²⁺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、1 mL 玻璃比色皿、震荡仪、甲苯。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 30mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃保存。

试剂三：液体 10mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂四：液体 5mL×1 瓶，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 (g) | 0.1 | 0.1 |
| 甲苯 (μL) | 50 | 50 |
| 25℃，静置 15min | | |
| 试剂一 (μL) | 700 | 600 |
| 试剂二 (μL) | | 100 |
| 试剂三 (μL) | 200 | 200 |
| 试剂四 (μL) | 100 | 100 |
| 充分混匀，于 30℃ 震荡反应 3h，于 10000rpm，4℃ 离心 10min，取 800 μL 于 1mL 玻璃比色皿，测定 465nm 处吸光值，记为 A 对照管和 A 测定管，△A=A 测定管 - A 对照管 | | |



酶活计算公式:

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

$$S\text{-MnP 活性 (nmol/min/g 土样)} = \frac{\Delta A}{\epsilon \times d} \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 8.3 \times \Delta A \div W$$

ϵ : 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, 1mL; W : 样本质量, g; T : 反应时间, 10min