

## 土壤锰过氧化物酶 (S-Mnp) 检测试剂盒 (微量法)

**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。

### 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。

### 测定步骤：

	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。

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

$\varepsilon$ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm;

d: 比色皿光径, 1cm

V 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。

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

$\varepsilon$ : 愈创木酚摩尔消光系数: 12100L/mol/cm;

d: 比色皿光径, 0.5cm;

V 反总: 反应总体积, 0.2mL;

W: 样本质量, g;

T: 反应时间, 3h