

土壤漆酶活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: AC10365

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 60 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C保存
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	常温保存

溶液的配制:

- 1、试剂二: 临用前每瓶加 15 mL 试剂一溶解;
- 2、试剂三: 若有白色物质析出, 放于 37°C中溶解即可。

产品说明:

土壤漆酶 (SL) 是一种含铜的多酚氧化酶, 属于铜蓝氧化酶家族, 广泛分布于真菌和高等植物中, 具有较强的氧化还原能力, 在纸浆生物漂白, 环境污染降解和木质纤维素降解以及生物检测方面有非常广泛的应用。

漆酶分解底物 ABTS 产生 ABTS 自由基, 在 420nm 处的吸光系数远大于底物 ABTS, 测定 ABTS 自由基的增加速率, 可计算得漆酶活性。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品:

天平、低温离心机、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、震荡仪、研钵、30-50 目筛。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干, 过 30~50 目筛。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min, 调节波长到 420nm, 蒸馏水调零。

2. 加样表:

试剂名称	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μL)	450	450
试剂二 (μL)	500	-
37°C 水浴反应 10min。		
试剂三 (μL)	50	50
试剂二 (μL)	-	500
4°C, 12000g 离心 15min, 取上清于 420nm 测定其吸光值, 分别记为 A 测定管、A 对照管, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

三、土壤漆酶（SL）活性计算公式

酶活性定义：每克土壤每分钟生成1nmol ABTS自由基所需的酶量为一个酶活力单位。

SL活性（U/g 土样）= $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 2.78 \times \Delta A \div W$

ϵ : ABTS自由基摩尔消光系数: 36000L/mol/cm; d: 比色皿光径, 1cm; $V_{\text{反总}}$: 反应总体积, 0.001L; W: 样本质量, g; T: 反应时间, 10min; 10^9 : 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol。

注意事项:

- 1、试剂一需临用前配制，并且尽快使用，4°C保存一周，若变色则不能使用。
- 2、测定之前进行预实验，若吸光值较高（A>1.5），请减少土样质量再进行测定。若数值偏小可以延长反应时间或增加土样质量进行测定。
- 3、离心后若上清仍然浑浊，可再次离心去除。

实验实例:

- 1、称取两份 0.1g 三叶草土样于 1.5mLEP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.698 - 0.334 = 0.364$ ，按土样重量计算酶活得：
SL 活性（U/g 土样）= $2.78 \times \Delta A \div W = 2.78 \times 0.364 \div 0.1 = 10.12$ U/g 土样。
- 2、称取两份 0.1g 林土样于 1.5mLEP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 1.43 - 0.778 = 0.652$ ，按土样重量计算酶活得：
SL 活性（U/g 土样）= $2.78 \times \Delta A \div W = 2.78 \times 0.652 \div 0.1 = 18.13$ U/g 土样。