

土壤漆酶 (SL) 试剂盒说明书

(货号:ADS-W-TR022 微板法 48 样)

有效期: 6 个月

一、产品简介:

土壤漆酶 (Laccase) 是一种含铜的多酚氧化酶, 属于铜蓝氧化酶家族, 具有较强的氧化还原能力。土壤漆酶分解底物 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。

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 25mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	粉剂 1 瓶	4°C保存	临用前甩几下, 使粉剂落到底部, 再加 6mL 蒸馏水充分溶解, 4°C保存一周, 若变色则不能使用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、天平、低温离心机、振荡培养箱。

四、土壤漆酶活性测定:

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。

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min, 调节波长到 420nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本 (g)	0.02	0.02
试剂一	200	300
试剂二	100	
37°C振荡反应 10min, 12000rpm, 4°C离心 5min, 分别取上清 200μL 转移至 96 孔板中, 于 420nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

【注】若 ΔA 差值较小, 可增加样本量或延长反应时间 T, 则改变后的样本质量 W 和反应时间 T 则代入计算公式重新计算。

五、结果计算:

酶活定义: 每克土壤每分钟氧化 1nmol 底物 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

SL 活性(nmol/min /g 土样)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \times 10^9$] $\div W \div T = 1.67 \times \Delta A \div W$

ϵ ---ABTS 摩尔消光系数: $36 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$;

d ---比色皿光径, 0.5cm;

V ---反应总体积, $0.3 \text{ mL} = 3 \times 10^{-4} \text{ L}$;

W ---样本质量, g;

T ---反应时间, 10min