Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 400-968-6088
Fax: 010-56371281
Http://www.solarbio.com

土壤漆酶活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC1965

规格：100T/48S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 3 mL×1 瓶	常温保存

溶液的配制：

1、 试剂二：临用前取 1 瓶加 7.5 mL 试剂一溶解，现用现配，并且尽快使用，用不完的试剂 2-8℃可保存一周；若试剂变色则不能使用。

2、 试剂三：若有白色物质析出，放于 37℃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，环境污染物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。

$$\text{ABTS} \xrightarrow{\text{SL}} \text{ABTS Radical(420nm)}$$

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：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、天平、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、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℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到420nm，分光光度计蒸馏水调零。
2. 加样表：

试剂名称	测定管	对照管

土样（g）	0.03	0.03
试剂一（μL）	135	135
试剂二（μL）	150	-

置于37℃水浴锅或37℃恒温培养箱准确反应10min。		
试剂三（μL）	15	15
试剂二（μL）	-	150
4℃，12000g 离心15min，取200μL上清于420nm测定其吸光值，分别记为A测定管、A对照管，计算ΔA测定=A测定管-A对照管。每个测定管需设一个对照管。		

三、土壤漆酶（SL）活性计算公式

A、按微量比色皿计算：

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）= ΔA测定 ÷(ε×d)×10^9×V反总÷W÷T=0.833×ΔA测定÷W

ε：ABTS自由基摩尔消光系数：36000L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V反总：反应总体积，3×10^{-4}L；W：样本质量，g；T：反应时间，10min；10^9：单位换算系数，1mol=10^9nmol。

B、按96孔板计算：

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）= ΔA测定÷(ε×d)×10^9×V反总÷W÷T=1.39×ΔA测定÷W

ε：ABTS 自由基摩尔消光系数，36000L/mol/cm；d：96孔板光径，0.6cm；V反总：反应总体积，3×10^{-4}L；W：样本质量，g；T：反应时间，10min；10^9：单位换算系数，1mol=10^9nmol 。

注意事项：

1、 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。计算时注意相对应修改计算公式。

2、 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 0.03g 三叶草土于 1.5mLEP 管中，分别为测定管及对照管，之后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管=0.421-0.23=0.191，按土样质量计算酶活得：

SL 活性（U/g 土样）=1.39×ΔA 测定÷W= 1.39×0.191÷0.03=8.84 U/g 土样。

2、 称取两份 0.03g 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，用 96 孔板测得计算ΔA 测定=A 测定管-A 对照管=1.009-0.463=0.546，按土样质量计算酶活得：

SL 活性（U/g 土样）=1.39×ΔA 测定÷W= 1.39×0.546÷0.03=25.30 U/g 土样。

相关系列产品：

BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶（S-PPO）活性检测试剂盒

BC0120/BC0125 土壤脲酶（S-UE）活性检测试剂盒

BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶（S-SC）活性检测试剂盒