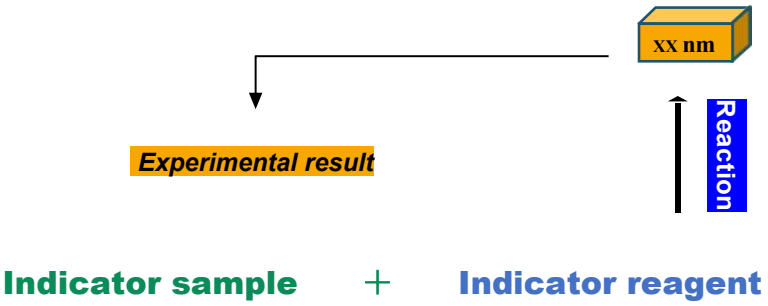
上海茁彩生物科技有限公司

Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.




生化检测原理示意图

# 土壤漆酶（Soil Laccase，SL）试剂盒说明书

## 可见分光光度法

**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：**

漆酶（Laccase）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。

**测定原理：**

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。

**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：**

| 种类 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用方法及注意事项 |
|---|---|---|---|
| 试剂一 | 液体100mL×1 瓶 | 4℃保存 | - |
| 工作液 | 粉剂×2 瓶 | 4℃避光保存 | 临用前每瓶加25mL试剂一溶解 |

测定操作：

1.分光光度计预热30min，调节波长到420nm，蒸馏水调零

| | 对照管 | 测定管 |
|---|---|---|
| 样本（g） | 0.1 | 0.1 |
| 试剂一（uL） | 1000 | |
| 工作液（uL） | | 1000 |
| 30℃震荡反映10min，冰浴5min，10000g，4℃离心10min，取出800ul反应液立即于420nm处测定吸光值，分别记为A1，A2。△ A=A2-A1 | | |

**酶活性计算公式**

酶活性定义：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鲜重）= △ A/(ε ×d)×V 反总÷W÷T= 2.78×△ A÷W

ε：ABTS 毫摩尔消光系数：36L/mmol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 反总：反应总体积， 1mL； W：样本质量， g；T：反应时间，10min。

**注意事项：**

1. 工作液需临用前配制，并且尽快使用，4℃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，请将样品用提取液进行适当的稀释再测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。
3. 反应完立即记录数据，以免造成逆向反应影响实验结果。