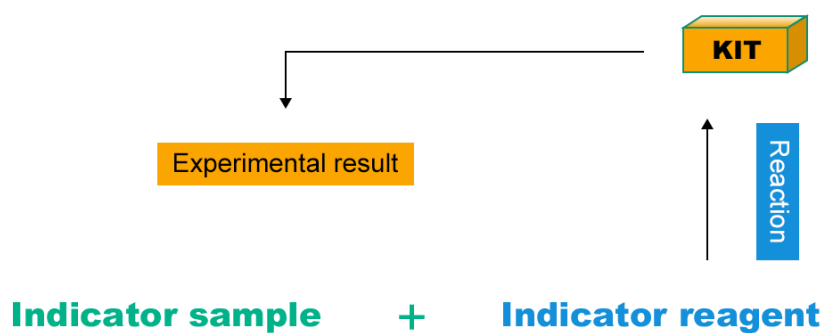


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0553

Size: 100T/48S

土壤漆酶检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义：

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。

二、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。

三、需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、震荡仪、30 目筛（或更小）。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×2 瓶	4℃避光保存	临用前每瓶加 7.5mL 试剂一溶解。
试剂三	液体 3mL×1 瓶	常温保存	若有白色物质析出，放于 37℃中溶解即可

五、操作步骤：

● 样本处理

新鲜土样风干，过 30 目筛。

● 测定操作

(1) 分光光度计/酶标仪预热 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)	0.03	0.03
试剂一 (μL)	135	135
试剂二 (μL)	150	
37°C 水浴反应 10min。		
试剂三 (μL)	15	15
试剂二 (μL)	-	150
4°C 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 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。		

六、土壤漆酶 (SL) 活性计算公式

(1) 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(U)。

$$\text{SL 活性 (U/g)} = \Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \quad \text{反总} \div W \div T = 0.833 \times \Delta A \div W$$

ϵ ：ABTS 自由基摩尔消光系数：36000L/mol/cm；d：比色皿光径，1cm；V 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=10⁹nmol。

(2) 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(U)。

SL 活性 (U/g) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V$ 反总 $\div W \div T = 1.39 \times \Delta A \div W$ 。

ϵ : ABTS 自由基摩尔消光系数: 36000L/mol/cm; d: 比色皿光径, 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=10⁹nmol 。

七、注意事项：

1. 试剂一需临用前配制，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 ($A > 1.5$)，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。