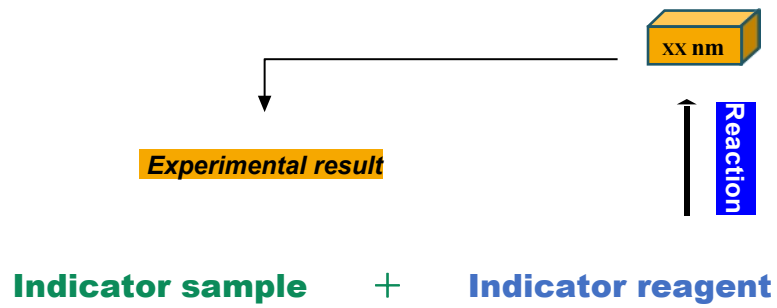


上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co.,Ltd.



生化检测原理示意图

土壤漆酶活性检测试剂盒说明书

微量法

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。

产品内容：

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

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。

自备实验用品及仪器：

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）。

操作步骤：

一、样本处理

新鲜土样风干，过30目筛。

二、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℃水浴反应10min。		
试剂三（ μL ）	15	15
试剂二（ μL ）	-	150
4℃ 12000g 离心15min，取200 μL 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

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

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, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

(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) = $\Delta A \div (\epsilon \times d) \times 10^9 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 1.39 \times \Delta A \div W$ 。

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, $1\text{mol} = 10^9\text{nmol}$ 。

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。