

土壤漆酶 (Soil-Laccase, SL) 试剂盒说明书

(货号:G0325F 分光法 24 样)

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 40mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下, 使粉剂落到底部, 再加 8mL 蒸馏水充分溶解, 4℃保存一周, 若变色则不能使用。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、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 可见分光光度计预热 30min, 调节波长到 420nm, 蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本 (g)	0.06	0.06
试剂一	600	900
试剂二	300	
37℃振荡反应 10min, 12000rpm, 4℃离心 5min, 分别取上清液转移至 1mL 玻璃比色皿中, 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) = $[\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \times 10^9] \div W \div T = 2.5 \times \Delta A \div W$

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

d---比色皿光径, 1cm;

V---反应总体积, $0.9 \text{ mL} = 9 \times 10^{-4} \text{ L}$;

W---样本质量, g;

T---反应时间, 10min

