

土壤漆酶（Soil Laccase, SL）试剂盒说明书

（微板法 48 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 25mL×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 6mL 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：

酶标仪、96 孔板、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 酶标仪预热 30min，调节波长到 420nm。

② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管	对照管
样本（g）	0.02	0.02
试剂一	200	300
试剂二	100	
37℃振荡反应 10min，12000rpm，4℃离心 5min，分别取上清 200 μL 转移至 96 孔板中，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)=[$\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V \times 10^9$] $\div W \div T = 1.67 \times \Delta A \div W$

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

d---比色皿光径，0.5cm；

V---反应总体积，0.3mL=3 $\times 10^{-4}$ L；

W---样本质量，g；

T---反应时间，10min