

土壤漆酶（SL）试剂盒说明书

（货号:BP10104W 微板法 48 样 有效期：6 个月）

一、指标介绍：

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

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂 1 瓶	4℃避光保存	1. 开盖前注意使试剂落入底部（可手动甩一甩）； 2. 加入 6mL 蒸馏水充分溶解，4℃保存一周，若变色则不能使用。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取

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、检测步骤：

① 酶标仪预热 30min，调节波长到 420nm。

② 在 EP 管中依次加入：

试剂组分（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 200μL 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 $\times 10^3$ 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