



土壤碳酸酐酶 (S-CA) 活性检测试剂盒

Soil Carbonic Anhydrase (S-CA) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



土壤碳酸酐酶 (S-CA) 活性检测试剂盒

Soil Carbonic Anhydrase (S-CA) Activity Assay Kit

一、产品描述

土壤碳酸酐酶能够催化二氧化碳和水反应生成碳酸,通过碳循环过程参与土壤有机质的分解和转化,进而影响土壤肥力和养分的供应,对土壤生态系统的稳定性和功能具有重要影响。

土壤碳酸酐酶能够催化乙酸对硝基苯酯反应生成对硝基苯酚,产物在 405 nm 处具有特征吸收峰,通过吸光值变化即可表征土壤碳酸酐酶的活性。

二、产品内容

| 名称 | 试剂规格 | 储存条件 | 使用方法及注意事项 |
|---|--------------|-----------|--|
| 试剂一 | 液体 60 mL×1 瓶 | 4°C保存 | - |
| 试剂二 | 粉剂×2 瓶 | -20°C避光保存 | 使用前每瓶加入 1.2 mL 丙酮充分溶解 再加入 12 mL 蒸馏水充分混匀 (分装后-20°C可保存 1 周,避免反复冻融) |
| 标准液 | 液体 1 mL×1 支 | 4°C避光保存 | 10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液 |
| 标准稀释液的制备(现用现配):使用前将 10 μmol/mL 对硝基苯酚标准液使用蒸馏水稀释至 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 μmol/mL 即为标准稀释液。 | | | |

需自备试剂:丙酮(C₃H₆O, MW=58.08, CAS:67-64-1);甲苯(C₇H₈, MW=92.14, CAS:108-88-3)

| 序号 | A | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-------|
| 稀释前浓度(μmol/mL) | 10 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 0.1 | 0.05 |
| 标准液体积(μL) | 100 | 200 | 150 | 100 | 100 | 500 | 500 |
| 蒸馏水体积(μL) | 900 | 300 | 350 | 400 | 900 | 500 | 500 |
| 稀释后浓度(μmol/mL) | 1.0 | 0.4 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 0.05 | 0.025 |

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂:可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿(光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、烘箱、30-50 目筛、甲苯和丙酮。

1. 土壤样本的预处理

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干,过 30-50 目筛。

2.测定步骤

①分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 405 nm，蒸馏水调零。

②试验前将试剂一置于 37°C 预热 15 min 以上。

③标准稀释液的测定：在离心管中依次加入下列试剂

| 试剂 | 标准管 (μL) | 空白管 (μL) |
|-------|--------------------------|--------------------------|
| 标准稀释液 | 200 | - |
| 蒸馏水 | - | 200 |
| 试剂一 | 800 | 800 |

吸光值测定：充分混匀后将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中，测定 405 nm 处吸光值，记为 A 标准和 A 空白，计算 ΔA 标准=A 标准-A 空白；注：各浓度标准管和空白管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.025 $\mu\text{mol/mL}$ 标准稀释液浓度为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ 。

④土壤碳酸酐酶活性测定：在离心管中依次加入下列试剂

| 试剂 | 测定管 (μL) | 对照管 (μL) |
|---|--------------------------|--------------------------|
| 风干土样 (mg) | 100 | 100 |
| 甲苯 | 50 | 50 |
| 充分振荡混匀，室温静置 15 min | | |
| 试剂一 | 750 | 750 |
| 充分混匀，对照管沸水浴处理 10 min 冷却至室温，测定管不进行此步骤 | | |
| 试剂二 | 200 | 200 |
| 充分混匀，37°C 准确反应 5 min 立即置于冰水浴中恢复至室温 4°C 15000 g 离心 10 min，取上清液 | | |

注：沸水浴处理过程注意密封以防止水分散失，推荐使用带螺纹盖离心管或冻存管。

吸光值测定：吸取 800 μL 上清液至 1 mL 玻璃比色皿中，测定 405 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，计算 ΔA 测定=A 测定-A 对照。将 ΔA 测定带入标准曲线方程 $y=kx+b$ ，计算样品浓度 x ($\mu\text{mol/mL}$)。注：每个样本均需设一个对照管；离心后上清液应完全清澈，若浑浊可再次离心。

3.土壤碳酸酐酶 (S-CA) 活性计算

单位定义：37°C条件下，每 g 土壤每分钟催化生成 1 μmol 对硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-CA (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{标}}}{W \times T} = \frac{0.04 \times x}{W}$$

注释：V 标：加入标准稀释液的体积，0.2 mL；W：土壤质量，g；T：酶促反应时间，5 min。

四、注意事项

①若 A 测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将上清液使用蒸馏水稀释后再进行测定；低于最低值建议增加样本量或延长酶促反应时间（37°C反应时间可延长至 10-30 min）后再进行测定，计算时相应修改；

②试剂二配制后有效期较短，为便于试验安排，附赠一瓶试剂二作为备用，每瓶均可完成至少 25 个样本的检测用量；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

