

## 土壤脂肪酶（S-LPS）活性检测试剂盒（微量法）

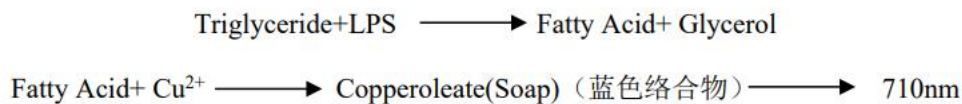
产品货号：BA1950

产品规格：100T/48S

### 产品简介：

脂肪酶（LPS）又称甘油酯水解酶，催化甘油三酯水解生成脂肪酸和甘油（或者甘油二酯和单酯）。该酶在土壤生物动力学中具有重要的作用。

LPS催化油脂水解成脂肪酸，利用铜皂法测定脂肪酸生成速率，即可计算LPS活性。



注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体15mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体5mL×1瓶	室温
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	液体10mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体59.3μL×1支	2-8℃

### 溶液的配制：

1. 标准品：临用前加入1.97mL甲苯，即100 μ mol/mL油酸。用前注意解冻溶解。用不完的试剂可以2-8℃保存一个月。
2. 工作液的配制：将试剂三临用前加入16mL蒸馏水于沸水浴中溶解，2-8℃保存两周。冷却至常温后加入4mL试剂二混合，高速震荡2次，每次3min，间隔5min。可根据该比例现用现配。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板（非聚苯乙烯材质）、台式离心机、震荡混匀器、恒温水浴锅/恒温培养箱、可调式移液枪、研钵、甲苯（不可快递）、冰和蒸馏水、30-50目筛。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干，过30-50目筛。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至710nm，分光光度计用甲苯调零。
2. 标准溶液的稀释：取50μL 100μmol/mL油酸标准溶液，加入950μL甲苯，充分混匀，配制成5μmol/mL标准溶液待测，现用现配。（实验中每管需要300μL，为减小实验误差，故配制大体积。）
3. 操作表：取1.5mL EP管，加入下列试剂：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

加入试剂 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
土样 (g)	0.03	0.03	-	-
甲苯	15	15	-	-
使土样充分润湿, 常温放置10min。			-	-
试剂一	150	150	-	-
工作液	-	150	-	-
置于37℃恒温培养箱或37℃恒温水浴锅中准确反应1h, 期间可震荡数次使土样和样本充分接触。之后沸水浴10min (缠封口膜, 防止EP管崩开导致水分散失), 自然冷却至室温。			-	-
工作液	150	-	-	-
甲苯	360	360	-	-
反复震荡混匀后, 室温4000rpm离心10min				
取出离心管, 小心吸取上层有机相0.3mL, 加入另一1.5mL EP管中, 按下表操作:				
上层溶液	300	300	-	-
5μmol/mL标准溶液	-	-	300	-
甲苯	-	-	-	300
试剂四	75	75	75	75

反复充分震荡混匀; 室温4000rpm离心10min, 小心吸取有机相溶液200 μL, 加入微量玻璃比色皿/96孔UV板, 于710nm处测定吸光值。记为A对照管、A测定管、A标准管、A空白管, 计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管和标准管只需做1-2次。

### 三、S-LPS活性计算

活性单位定义: 37℃中每g土样每天水解橄榄油生成1μmol脂肪酸为一个酶活单位。

$S\text{-LPS (U/g 土样)} = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{甲苯}} \div T \div W = 43.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

V甲苯: 加入的甲苯体积, 0.36mL; C标准: 标准溶液浓度, 5μmol/mL; T: 催化反应时间, 1/24d; W: 样本质量, g。

### 注意事项:

1. 甲苯有毒, 实验过程中需佩戴手套和口罩。
2. 实验过程中须远离火源。
3. 当吸光度大于0.8时, 建议将样本稀释后测量 (第二次加入甲苯的量增加)。
4. 甲苯可溶解聚苯乙烯/聚丙烯材质。

### 实验实例:

1. 取两管0.03g三叶草土, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 用96孔UV板测定吸光值, 记为A测定管、A对照管。计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.145 - 0.093 = 0.052$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.432 - 0.061 = 0.371$ , 计算酶活得:  
 $S\text{-LPS (U/g 土样)} = 43.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 43.2 \times 0.052 \div 0.371 \div 0.03 = 201.83 \text{ U/g 土样}$ 。
2. 取两管0.03g林土, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 用96孔UV板测定吸光值, 记为A测定管、A对照管。计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.124 - 0.08 = 0.044$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.432 - 0.061 = 0.371$ , 计算酶活得:  
 $S\text{-LPS (U/g 土样)} = 43.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 43.2 \times 0.044 \div 0.371 \div 0.03 = 170.78 \text{ U/g 土样}$ 。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com