

# 土壤脂肪酶（S-LPS）活性检测试剂盒说明书

微量法

货号：AC10615

规格：100T/48S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 15 mL×1 瓶	4°C保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	常温保存
试剂三	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂四	液体 10 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 59.3 μL×1 支	4°C保存

溶液的配制：

- 1、标准品：临用前加入 1.435 mL 甲苯，即 125 μmol/mL 油酸。用前注意解冻溶解。
- 2、工作液的配制：将试剂三临用前加入 16 mL 蒸馏水于沸水浴中溶解，冷却至常温后加入 4 mL 试剂二混合，高速震荡 2 次，每次 3min，间隔 5min。4°C保存，也可根据该比例现用现配。

**产品说明：**

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催化油酯水解成脂肪酸，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。**

**需自备的仪器和用品：**

台式离心机、震荡混匀器、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/聚丙烯材料）、可调式移液枪、研钵、甲苯、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，甲苯调零。
- 2、标准溶液的稀释：将油酸标准溶液用甲苯稀释25倍即为5μmol/mL的标准溶液待测。
- 3、操作表：取1.5mL EP管，加入下列试剂

加入试剂	对照管	测定管	标准管	空白管
土样（g）	0.03	0.03	-	-
甲苯（μL）	15	15	-	-

使土样充分润湿，常温放置 10min。			-	-
试剂一 (μL)	150	150	-	-
工作液 (μL)	-	150	-	-
37°C水浴反应 1h，期间可震荡数次使土样和样本充分接触。 之后沸水浴 10min，冷却至室温。			-	-
工作液 (μL)	150	-	-	-
甲苯 (μL)	360	360	-	-
反复震荡混匀后，室温 4000rpm 离心 10 min			-	-

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 (μL)	300	300	-	-
标准品 (μL)	-	-	300	-
甲苯 (μL)	-	-	-	300
试剂四 (μL)	75	75	75	75

反复充分震荡混匀，室温 4000rpm 离心 10 min，小心吸取有机相溶液 200μL，加入微量玻璃比色皿/96 孔板中，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  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

### 三、S-LPS 活性计算

活性单位定义：37°C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。

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

V<sub>甲苯</sub>：加入的甲苯体积，0.36mL；C<sub>标准</sub>：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，记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.145 - 0.093 = 0.052$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.432 - 0.061 = 0.371$ ，计算酶活得： $\text{S-LPS (U/g 土样)} = 43.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 43.2 \times 0.052 \div 0.371 \div 0.03 = 201.83 \text{ U/g 土样}$ 。
- 2、取两管 0.03g 林土样即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.124 - 0.08 = 0.044$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.432 - 0.061 = 0.371$ ，计算酶活得： $\text{S-LPS (U/g 土样)} = 43.2 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 43.2 \times 0.044 \div 0.371 \div 0.03 = 170.78 \text{ U/g 土样}$ 。