

土壤脂肪酶（S-LPS）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC3980

规格: 50T/24S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 6 mL×1 瓶	常温保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 20 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 59.3 μL×1 支	2-8℃保存

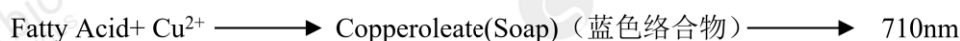
溶液的配制：

- 1、标准品：临用前加入 1.97 mL 甲苯，即 100 μmol/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 20 mL 蒸馏水于沸水浴中溶解，2-8℃保存两周。冷却至常温后加入 5 mL 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。

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、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（>98%，AR）、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、分光光度计预热30min以上，调节波长至710nm，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5μmol/mL标准溶液待测，现用现配。（实验中每管需要1mL。）

3、操作表：取2mL EP管，加入下列试剂





加入试剂 (μL)	对照管	测定管	标准管	空白管
土样 (g)	0.1	0.1	-	-
甲苯	50	50	-	-
使土样充分润湿, 常温放置 10min。			-	-
试剂一	500	500	-	-
工作液	-	500	-	-
置于 37°C 恒温培养箱或 37°C 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, 防止爆盖), 自然冷却至室温。			-	-
工作液	500	-	-	-
甲苯	1200	1200	-	-
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 1mL, 加入另一 1.5mL EP 管中, 按下表操作:

上层溶液	1000	1000	-	-
5μmol/mL 标准溶液	-	-	1000	-
甲苯	-	-	-	1000
试剂四	250	250	250	250

反复充分震荡混匀; 室温 4000rpm 离心 10min, 小心吸取上层有机相溶液 800μL, 加入 1mL 玻璃比色皿, 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°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。

$S\text{-LPS (U/g 土样)} = \Delta A_{\text{测定}} \div (\Delta A_{\text{标准}} \div C_{\text{标准}}) \times V_{\text{甲苯}} \div T \div W = 144 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

V 甲苯: 加入的甲苯体积, 1.2mL; 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 0.1g 三叶草土, 即为测定管和对照管, 按照测定步骤操作, 用 1mL 玻璃比色皿测定吸光值, 记为 A 测定管、A 对照管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.195 - 0.094 = 0.101$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.754 - 0.028 = 0.726$, 计算酶活得:

$S\text{-LPS (U/g 土样)} = 144 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 144 \times 0.101 \div 0.276 \div 0.1 = 200.33 \text{ U/g 土样}。$



2、取两管 0.1g 林土,即为测定管和对照管,按照测定步骤操作,用 1mL 玻璃比色皿测定吸光值,记为 A 测定管、A 对照管。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.143 - 0.074 = 0.069$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}} = 0.754 - 0.028 = 0.726$, 计算酶活得:

$$\text{S-LPS (U/g 土样)} = 144 \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W = 144 \times 0.069 \div 0.726 \div 0.1 = 136.86 \text{ U/g 土样}.$$

相关发表文献:

- [1] Wei S, Zhao Y, Zhou R, Lin J, Su T, Tong H, Wang Z. Biodegradation of polybutylene adipate-co-terephthalate by *Priestia megaterium*, *Pseudomonas mendocina*, and *Pseudomonas pseudoalcaligenes* following incubation in the soil. *Chemosphere*. 2022 Nov;307(Pt 1):135700. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135700. Epub 2022 Jul 15.
- [2] Wang L, Li J, Zhang S. A Comprehensive Network Integrating Signature Microbes and Crucial Soil Properties During Early Biological Soil Crust Formation on Tropical Reef Islands. *Front Microbiol*. 2022 Mar 17; 13:831710. doi: 10.3389/fmicb.2022.831710. PMID: 35369528; PMCID: PMC8969229.

相关系列产品:

- BC4030/BC4035 土壤 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (S-C1) 活性检测试剂盒
- BC4020/BC4025 土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 活性检测试剂盒
- BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒
- BC3100/BC3105 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒

