

土壤脂肪酶 (S-LPS) 活性检测试剂盒 (可见分光光度法)

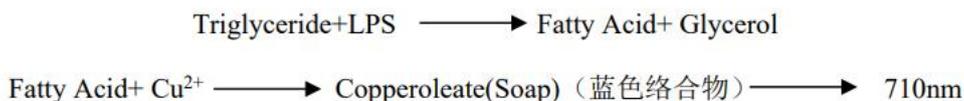
产品货号: BA1949

产品规格: 50T/24S

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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体30mL×1瓶	2-8℃
试剂二	液体6mL×1瓶	室温
试剂三	粉剂×1瓶	2-8℃
试剂四	液体20mL×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20mL蒸馏水于沸水浴中溶解, 2-8℃保存两周。冷却至常温后加入5mL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、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 (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, 配制成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:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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℃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	500	-	-	-
甲苯	1200	1200	-	-
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, 小心吸取有机相溶液800 μL, 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 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。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。

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

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 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.195 - 0.094 = 0.101$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管} = 0.754 - 0.028 = 0.726$, 计算酶活得:
 $S-LPS (U/g \text{ 土样}) = 144 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 144 \times 0.101 \div 0.726 \div 0.1 = 200.33 U/g \text{ 土样}$ 。
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 $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管} = 0.143 - 0.074 = 0.069$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管} = 0.754 - 0.028 = 0.726$, 计算酶活得:
 $S-LPS (U/g \text{ 土样}) = 144 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W = 144 \times 0.069 \div 0.726 \div 0.1 = 136.86 U/g \text{ 土样}$ 。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com