

土壤脂肪酶（S-LPS）活性试剂盒说明书

（分光法 48 样）

一、产品简介：

脂肪酶(EC 3.1.1.3)是一种特殊的酯键水解酶，能催化天然油脂水解，在食品、医药、洗涤剂 and 皮革等许多工业领域中都有广泛的应用。

本试剂盒提供一种简单、快速的检测方法，以对硝基苯酚酯作为底物，脂肪酶水解底物产生具有颜色的对硝基苯酚，在405nm波长下测定其吸光值，即可得出脂肪酶活力。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	A 液： $\mu\text{L}\times 3$ 支 B 液：5mL $\times 1$ 瓶	-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存	临用前甩几下，使微量 A 液体落到底部，再向每支 A 液中加入 2mLB 液，混匀备用，用不完的试剂仍-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。
试剂二	液体 35mL $\times 1$ 瓶	4 $^{\circ}\text{C}$ 保存	
标准品	粉体 mg $\times 1$ 支	4 $^{\circ}\text{C}$ 保存	若重新做标曲，则用到该标曲。

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、低温离心机、可调式移液枪、蒸馏水。

四、土壤脂肪酶（S-LPS）活性测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

取新鲜土样或风干（可 37 度烘箱风干）土样，先粗研磨，过 40 目筛网备用。

【注】：土壤风干，减少土壤中水分对于实验的干扰；土壤过筛，保证取样的均匀细腻；

2、上机检测：

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

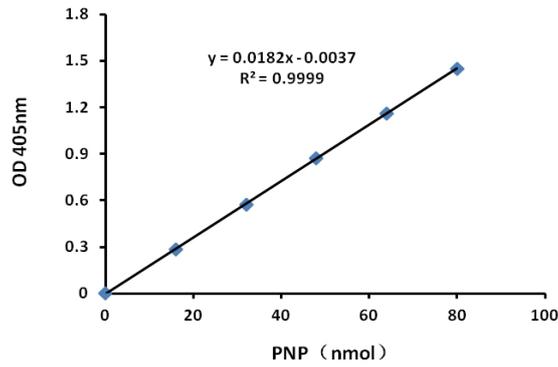
② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管（仅做一次）
土壤样本 (g)	0.15g	
试剂一	80	80
试剂二	680	680
混匀，30 $^{\circ}\text{C}$ 条件振荡反应 20min，立即于 4 $^{\circ}\text{C}$ ，12000rpm 离心 10min，取出全部上清液至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 405nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【注】若 ΔA 值在零附近，可以延长反应时间 T（如至 40min 或更长），或增加土壤样本量 W（如增至 0.2g），则改变后的反应时间 T 和土壤样本质量 W 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0182x - 0.0037$ ，x 是标准品摩尔质量（nmol），y 是 ΔA 。



2、酶活定义：每小时每克土样释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

$$S-LPS(\text{nmol/h/g 干土})=[(\Delta A+0.0037)\div 0.0182]\div W\div T=164.8\times(\Delta A+0.0037)\div W$$

T---反应时间，20 min=1/3h;

W---土壤样本实际取样量，g。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液（20 $\mu\text{mol/mL}$ ）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 96 孔板中加入：20 μL 标准品+80 μL 的 B 液+660 μL 试剂二，混匀，于 405nm 下读取吸光值，根据结果制作标准曲线。