

土壤脂肪酶（S-LPS）试剂盒说明书

（货号：BP10090W 微板法 96 样 有效期：6 个月）

一、指标介绍：

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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	A 粉体：4 支 B 液：5mL×1 瓶	-20℃避光保存	1. 临用前甩几下，使微量 A 粉体落到底部，再向每支 A 粉体中加入 1.2mL B 液，混匀备用； 2. 用不完的试剂仍-20℃保存。
		4℃避光保存	
试剂二	液体 35mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 1 支	4℃避光保存	1. 若重新做标曲，则用到该试剂； 2. 按照说明书中标曲制作步骤进行配制；溶解后的标品一周内用完。

三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

1、样本提取：

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、检测步骤：

① 酶标仪预热 30 min，调节波长到 405 nm。

② 在 EP 管中依次加入：

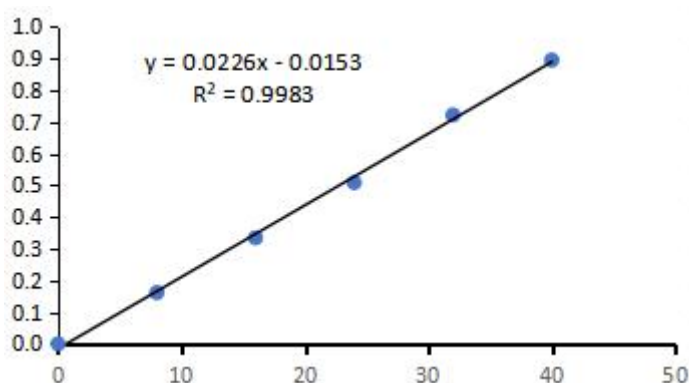
试剂组分 (μL)	测定管	空白管（仅做一次）
土壤样本 (g)	0.1g	
试剂一	40	40
试剂二	340	340

混匀, 30°C条件振荡反应 20min, 立即于 4°C, 12000rpm 离心 10min, 取出 200μL 上清液至 96 孔板中, 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: $y = 0.0226x - 0.0153$, 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。

$$S-LPS(\text{nmol/h/g 干土}) = [(\Delta A + 0.0153) \div 0.0226] \div W \div T = 132.7 \times (\Delta A + 0.0153) \div W$$

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:

- 向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水, 标准品母液浓度为 20μmol/mL。将母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品, 例如: 0, 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4μmol/mL。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 标品稀释参照表如下:

吸取标准品母液 200uL, 加入 800uL 蒸馏水, 混匀得到 4μmol/mL 的标品稀释液待用。						
标品浓度 μmol/mL	0	0.8	1.6	2.4	3.2	4
标品稀释液 uL	0	40	80	120	160	200
水 uL	200	160	120	80	40	0
各标准管混匀待用。						

3 依据加样表操作, 根据结果, 以各浓度吸光值减去 0 浓度吸光值, 过 0 点制作标准曲线。

试剂名称 (μL)	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	10	
蒸馏水		10
B 液	40	40
试剂二	330	330
混匀, 于 405nm 下读取吸光值, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{0 浓度管}}$ 。		

