

土壤脂肪酶 (S-LPS) 试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR050 微板法 96 样)

有效期: 6 个月

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、洗涤剂和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 粉体: 4 支 B 液: 5mL×1 瓶	-20°C保存	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,用不完的试剂仍-20°C保存。
试剂二	液体 35mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉体 1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该标曲。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、低温离心机、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

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 酶标仪预热 30 min,调节波长到 405 nm。

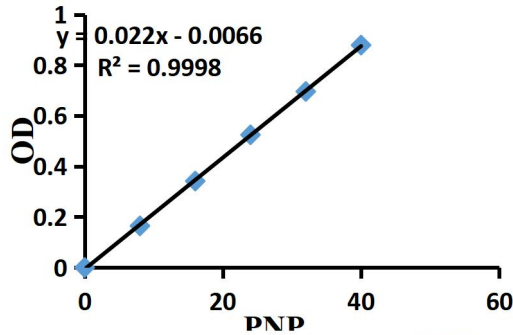
② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (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, $\Delta A = A_{测定} - A_{空白}$ 。		

【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： $y = 0.022x - 0.0066$ ，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。

$$S-LPS(\text{nmol/h/g 干土}) = [(\Delta A + 0.0066) \div 0.022] \div W \div T = 136.4 \times (\Delta A + 0.0066) \div W$$

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：10 μL 标准品+40 μL 的 B 液+330 μL 试剂二，混匀，于 405nm 下读取吸光值，根据结果制作标准曲线。