

## 脂肪酶（LPS）活性试剂盒说明书

（货号：ADS-F-ZF005 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
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	A 粉体 1 瓶 B 液： 15mL×1 瓶	-20℃保存	临用前甩几下，使微量 A 粉体落到底部，再向每瓶 A 中加入 12ml B 液，混匀备用，用不完的试剂可-20℃分装保存。
试剂二	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 1 支	4℃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)、研钵、低温离心机、可调式移液枪、冰和蒸馏水。

### 四、脂肪酶（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：

① 组织样本：称取约 0.1g 组织（含水量高的样本可取 0.5g）加入研钵中，加入 1mL 提取液，在冰上进行匀浆，12000rpm，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液；冰浴超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 300w，超声 3 秒，间隔 7 秒，总时间 3min）；然后 12000rpm，4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌或细胞数量（10<sup>4</sup> 个）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取

③ 液体样本：直接检测。若浑浊，离心后取上清检测。

#### 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 1mL 玻璃比色皿中依次加入：

试剂名称（μL）	测定管
试剂一	160
试剂二	600
样本	40
混匀，30℃条件下，立即于 405nm 处读取吸光值 A1，10min 后读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

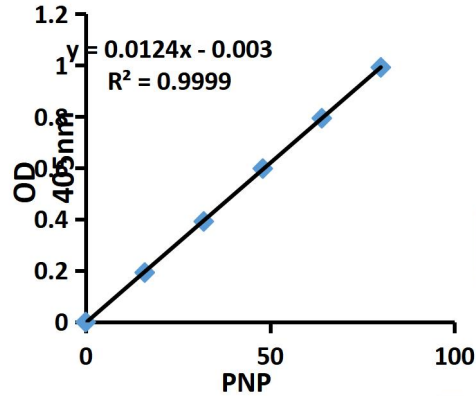
【注】1. 若  $\Delta A$  值在零附近，可以延长反应时间 T（如至 20min），或增加样本量 V1（如 80μL，则试剂二相应减少）；若 10min 后的 A2 值大于 1.5 或更高可缩短反应时间 T（如减至 5min 或更短）；则改变后的反应时间 T

和样本量 V1 需代入公式重新计算。

- 若样本自身色素较高，导致起始 A1 值大于 1.0，则可减少样本量 V1（如减至 20 $\mu$ L，则试剂二相应增加），则改变后的样本量 V1 需代入公式重新计算。

## 五、结果计算：

- 标准曲线方程： $y = 0.0124x - 0.003$ ，x 是标准品摩尔质量（nmol），y 是  $\Delta A$ 。



- 按照蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPS (nmol/min/mg prot)} = [(\Delta A + 0.003) \div 0.0124] \div (\text{Cpr} \times V1) \div T = 201.6 \times (\Delta A + 0.003) \div \text{Cpr}$$

- 按照样本质量计算：

酶活定义：每克组织每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPS (nmol/min/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.003) \div 0.0124] \div (W \times V1 \div V) \div T = 201.6 \times (\Delta A + 0.003) \div W$$

- 按照细菌/细胞数量计算：

酶活定义：每  $10^4$  个细胞每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPS (nmol/min/10}^4\text{cell)} = [(\Delta A + 0.003) \div 0.0124] \div (500 \times V1 \div V) \div T = 0.4032 \times (\Delta A + 0.003)$$

- 按照液体样本计算：

酶活定义：每毫升液体每分钟释放出 1nmol 对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{LPS (nmol/min/mL)} = [(\Delta A + 0.003) \div 0.0124] \div V1 \div T = 201.6 \times (\Delta A + 0.003)$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.04mL；

T---反应时间，10 min。

500---细菌/细胞数量； W---样本质量，g；

Cpr---上清液蛋白质浓度，mg/mL，建议使用本公司 BCA 蛋白质含量测定试剂盒；

附：标准曲线制作过程：

- 制备标准品母液（20 $\mu$ mol/mL）：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。
- 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2 $\mu$ mol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 在 1mL 玻璃比色皿中加入：40 $\mu$ L 标准品+160 $\mu$ L 的 B 液+600 $\mu$ L 试剂二，混匀，于 405nm 下读取吸光值，根据结果制作标准曲线。