

## 土壤脂肪酶（S-LPS）活性试剂盒说明书

（货号：ADS-F-TR050 分光法 48 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：

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	A 粉体：3 瓶 B 液：6mL×1 瓶	-20℃避光保存	1. 临用前甩几下，使微量 A 粉体落到底部，再向每瓶 A 粉体中加入 2mLB 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； 3. 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）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、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 可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 405 nm，蒸馏水调零。

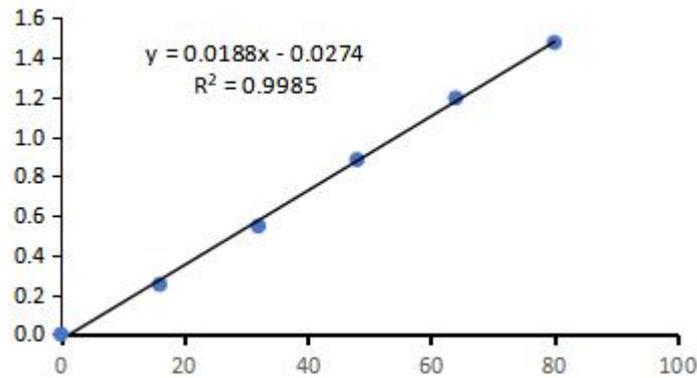
② 在 EP 管中依次加入：

试剂组分 (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℃条件振荡反应 20min, 立即于 4℃, 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  $\Delta A$  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： $y = 0.0188x - 0.0274$ ，x 是标准品摩尔质量 (nmol)，y 是  $\Delta A$ 。



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。

$$S-LPS(\text{nmol/h/g 干土}) = [(\Delta A + 0.0274) \div 0.0188] \div W \div T = 159.6 \times (\Delta A + 0.0274) \div W$$

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 向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水，标准品母液浓度为 20 $\mu\text{mol/mL}$ 。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, 4 $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本调整标准品浓度。
- 2 标品稀释参照表如下：

吸取标准品母液 200 $\mu\text{L}$ ，加入 800 $\mu\text{L}$ 蒸馏水，混匀得到 4 $\mu\text{mol/mL}$ 的标品稀释液待用。						
标品浓度 $\mu\text{mol/mL}$	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 ( $\mu\text{L}$ )	标准管	0 浓度管 (仅做一次)
标品	20	
蒸馏水		20
B 液	80	80
试剂二	660	660
混匀，于 405nm 下读取吸光值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - 0$ 浓度管。		