

土壤脂肪酶 (Solid-Lipase, S-LPS) 活性试剂盒说明书

微量法 100T/96S

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

LPS 又称甘油酯水解酶，催化甘油三酯水解生成脂肪酸和甘油（或者甘油二酯和单酯）。LPS 广泛的存在于各种生物中。

测定原理：

LPS 催化油酯水解成脂肪酸，利用铜皂法测定脂肪酸生成速率，即可计算 LPS 活性。

自备仪器和用品：

研钵、台式离心机、震荡混匀器、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96 孔板、可调式移液枪、甲苯 80mL、冰和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 65mL×2 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 10mL×1 瓶，4℃ 保存。每次使用前用震荡混匀器剧烈震荡 20min。

试剂三：甲苯 80mL×1 瓶，4℃ 保存（自备）。

试剂四：液体 10mL×1 瓶，4℃ 保存。

标准品：液体 10 μL×1 瓶，10 μmol/mL 的标准溶液，4℃ 保存。临用前加入 3.168 mL 甲苯，充分溶解。

样本处理：

建议称取约 0.1g 土样，加入 1mL 试剂一进行冰浴匀浆，再用回旋式振荡器振荡提取 15min，4℃，4000g 离心 10min，取上清待测。

S-LPS 测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min，调节波长到 710 nm，蒸馏水调零。
2. 试剂一和试剂二置于 37℃ 水浴预热 30min。
3. 在 1.5mL EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
蒸馏水	150	
样本		50
试剂一	300	300
试剂二		100

37℃ 振荡反应 10 min

试剂三	800	800
-----	-----	-----

37℃ 振荡反应 10 min 后，8000g，25℃，离心 10min，取上清液

试剂名称 (μL)	空白管	测定管	标准管
-----------	-----	-----	-----

上清液	400	400	
标准品			400
试剂四	100	100	100

37℃振荡反应 5 min 后，静置 5min，取 200μL 上层液加入微量石英比色皿/96 孔板，于 710nm 处测定吸光值。

注意：空白管和标准管只需测定一次。

S-LPS 活性计算公式：

活性单位定义：37℃中每克土样每分钟水解橄榄油生成 1μmol 脂肪酸为一个酶活单位。

$$\begin{aligned}
 \text{S-LPS } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 土样}) &= [\text{C 标准品} \times (\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \times \text{V 反总} \div (\text{W} \times \text{V 样} \\
 &\quad \div \text{V 样总}) \div \text{T} \\
 &= 16 \times [(\text{A 测定管} - \text{A 空白管}) \div (\text{A 标准管} - \text{A 空白管})] \div \text{W}
 \end{aligned}$$

C 标准品：10 μmol/mL；V 反总：反应总体积，0.8mL；V 样：反应中加入样本体积，0.05mL；V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样本质量，g；T：催化反应时间，10 min。