

土壤脂肪酶（Solid-Lipase, S-LPS）活性试剂盒说明书

微量法100/96S

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催化油脂水解成脂肪酸，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°C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°C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。

$$S-LPS (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g 土样}) = [C_{\text{标准品}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})] \times V_{\text{反总}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}}) \div T$$

$$= 16 \times [(A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})] \div W$$

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。