

土壤脂肪酶（Solid-Lipase, S-LPS）活性试剂盒说明书

分光光度法 50 管/48 样

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。血清中 LPS 的异常增高常见于胰腺炎和胰腺癌。

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、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、甲苯 100mL、冰和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 90mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂二：液体 14mL×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 100mL×1 瓶，4℃ 保存（自备）。

试剂四：液体 20mL×1 瓶，4℃ 保存。

标准品：液体 10μL×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. 分光光度计预热 30 min 以上，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 以上。
3. 在 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	375	
样本		125
试剂一	750	750
试剂二		250

37℃ 振荡反应 10 min

试剂三	2000	2000
-----	------	------

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	1200	1200	
标准品			1200
试剂四	300	300	300

37℃ 振荡反应 5 min 后，静置 5min，取 800μL 上层液加入 1 mL 玻璃比色皿，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 1 μ mol 脂肪酸为一个酶活单位。

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

C 标准品: 10 μ mol/mL; V 反总: 反应总体积, 2mL; V 样: 反应中加入样本体积, 0.125mL;

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。