

## 土壤荧光素二乙酸酯（Fluorescein diacetate, FDA）水解酶试剂盒说明书

（货号：ADS-F-TR019-48 分光法 48 样）

### 一、产品简介：

土壤荧光素二乙酸酯(FDA)水解酶与土壤总碳、全氮、全磷等土壤养分指标间关系密切，与微生物活性间的相关性比其他酶活性更显著，同时也能够很好地反映系统中有机质的转化和土壤中微生物的活性，是土壤健康质量的微生物学指标之一。

FDA 是一种无色化合物，在介质中能被许多土壤酶所催化水解，并经脱水反应，产生酶解终产物—荧光素，该黄色产物在 490nm 处有强吸收峰，通过检测 490nm 处的吸光值变化即可得出 FDA 水解酶活性。

### 二、试剂盒组分与配制

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	110mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 1 瓶	4℃保存	临用前加 3mL 丙酮充分溶解备用
标准品	粉体 1 支	4℃保存	若重新做标曲，则用到该试剂

### 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）、可调式移液器、天平、低温离心机、恒温水浴锅、丙酮。

### 四、FDA 水解酶(FDA)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、样本处理：

取新鲜土样风干或 37℃烘箱风干，先粗研磨过 40 目筛备用。

[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、上机检测：

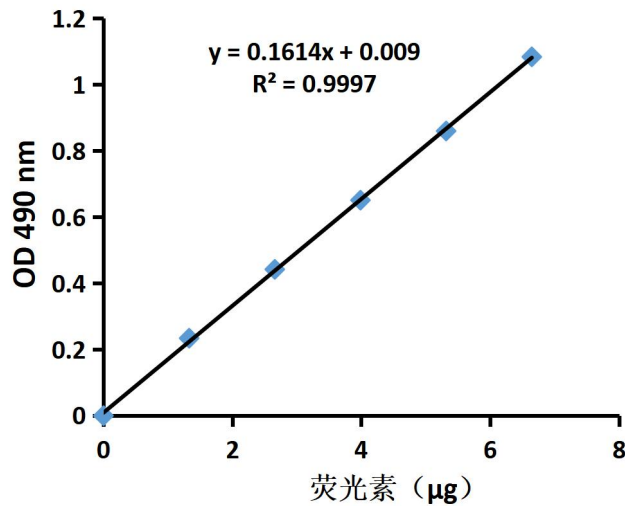
- ① 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 490nm，蒸馏水调零。
- ② 在 EP 管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.05	0.05
试剂一	1000	1000
试剂二	50	
丙酮		50
混匀，37℃反应 1h		
丙酮	150	150
混匀，12000 rpm 离心 10min，取全部上清液转移至 1mL 玻璃比色皿中，于 490nm 下读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

【注】：若  $\Delta A$  的差值较大，超过 1.5，可以降低土壤取样量，或者反应产物用蒸馏水稀释之后再检测，则稀释倍数 D 代入计算公式。

### 五、结果计算：

- 1、标准曲线： $y = 0.1614x + 0.009$ ；x 为标准品质量(μg)，y 为  $\Delta A$ 。



2、活性定义：每小时每克土样中产生 1µg 荧光素定义为一个酶活力单位。

$$\text{FDA 活性}(\mu\text{g/h/g}) = (\Delta A - 0.009) \div 0.1614 \div W \div T \times D = 6.2 \times (\Delta A - 0.009) \div W \times D$$

T---反应时间，1h;

W---土壤样本实际取样量;

D---稀释倍数，未稀释即为 1;

荧光素分子量---332.31。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (5µmol/mL)：向标准品 EP 管里面加入 1 mL 丙酮溶解，再加 1 mL 水（母液需在两天内用且-20℃保存）。
- 2 把母液用试剂一稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. µmol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 按照 20µL 标准品+1mL 试剂一+180µL 丙酮的体系来操作，依据结果即可制作标准曲线。