

## 土壤荧光素二乙酸酯 (FDA) 水解酶试剂盒说明书

(货号: ADS-W-TR019-96 微板法 96 样)

有效期: 6 个月

### 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×2 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 1 瓶	4℃保存	临用前加 6mL 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:

酶标仪、96 孔板、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 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 490nm。

② 在 EP 管中依次加入:

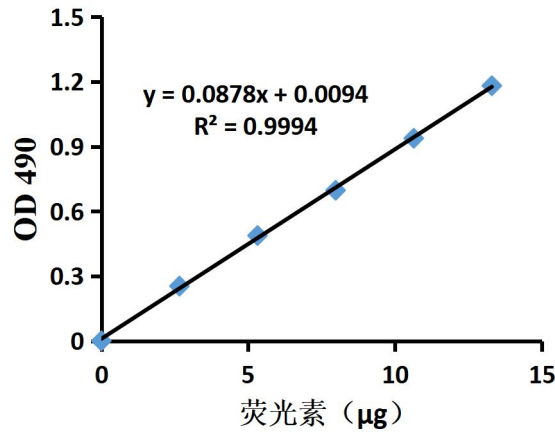
试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.05	0.05
试剂一	1000	1000
试剂二	50	
丙酮		50
混匀, 37℃反应 1h		

丙酮	150	150
混匀, 12000 rpm 离心 10min, 取 200 $\mu$ L 至 96 孔板中, 于 490nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A$ 测定-A 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： $y = 0.0878x + 0.0094$ ；x 为标准品质量( $\mu$ g)，y 为 $\Delta A$ 。



2、活性定义：每小时每克土样中产生 1 $\mu$ g 荧光素定义为一个酶活力单位。

$$\text{FDA 活性}(\mu\text{g/h/g}) = (\Delta A - 0.0094) \div 0.0878 \div W \div T \times D = 11.39 \times (\Delta A - 0.0094) \div W \times D$$

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 (5 $\mu$ mol/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 $^{\circ}$ C保存)。
- 2 把母液用试剂一稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.  $\mu$ mol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 按照 20 $\mu$ L 标准品+1mL 试剂一+180 $\mu$ L 丙酮的体系来操作, 依据结果即可制作标准曲线。