

## 土壤FDA水解酶活性检测试剂盒

可见分光光度法

注意：正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

货号：BC0480

规格：50T/24S

### 产品内容：

试剂一：液体30mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1瓶，-20℃避光保存，临用前加3mL丙酮溶解。

标准品：粉剂×1瓶，10mg荧光素，-20℃避光保存。临用前加入3.03mL 50%丙酮（丙酮（V）：蒸馏水（V）=1:1）配成10μmol/mL的荧光素标准溶液，可45℃水浴促进溶解。

### 产品说明：

FDA水解反应能很好的反应土壤中微生物活性和土壤质量的变化以及生态系统有机质的转化，是土壤质量研究中的重要生物学指标之一。

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，稳定不易被分解，并在490nm处有强吸收峰，通过检测490nm处的吸光值变化可计算得FDA水解酶活性。

### 需自备的仪器和用品：

天平、低温离心机、可见分光光度计、1mL玻璃比色皿、恒温水浴锅、丙酮、30目筛或更小。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理

新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干，过30目筛。

#### 二、测定操作表

1. 分光光度计预热30min，调节波长至490nm，50%丙酮调零。
2. 将10μmol/mL的荧光素标准溶液用50%丙酮稀释为2、0μmol/mL的标准溶液（0为空白管）。分别吸取1mL于比色皿中测定490nm下的吸光度A标准，A空白，计算 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

注意：空白管和标准管只需测定一到两次。

	对照管	测定管
样本（g）	0.1	0.1
试剂一（μL）	500	500
丙酮（μL）	450	-
试剂二（μL）	50	50
充分混匀，37℃，震荡反应1h		
丙酮（μL）	-	450
10000g，25℃，离心5min，取上清测定490nm处吸光值A，分别记为A测定管、A对照管。计算 $\Delta A = A_{测定管} - A_{对照管}$		

#### 三、FDA水解酶活性计算公式

酶活性定义：每克土壤每天产生1μmol荧光素的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned}\text{FDA活性 (U/g 土样)} &= (\Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T \\ &= 48 \times (\Delta A \div \Delta A_{\text{标准}}) \div W\end{aligned}$$

C标准品：标准品浓度2 $\mu\text{mol/mL}$ ；V反总：反应总体积，1 mL；W：样本质量，g；T：反应时间，1h=1/24d。

**注意事项：**

1. 尽量采用新鲜土样或者短期低温保存样品，否则很难准确反映酶的活性。
2. 测定之前进行预实验，若吸光值大于1.2，请进行适当的稀释再测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。若吸光值过小，可增加土样质量或增加反应时间来进行测定。