



土壤荧光素二乙酸酯水解酶活性检测试剂盒 FDA hydrolase Assay Kit

微量法

产品编号: AK443M
产品规格: 100T/48S
产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK443-S (标准品)	4mL×1 瓶	4℃保存;
AK443-A	40mL×1 瓶	4℃保存;
AK443-B	粉剂 1 瓶	-20℃避光保存, 临用前加4mL AK443-C溶解。
AK443-C	40mL×1 瓶	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 土壤荧光素二乙酸酯 (Soil-Fluorescein diacetate, S-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中有机的转化, 是土壤质量研究中的重要生物学指标之一。

原理: 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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、天平、低温离心机、微量石英比色皿/96 孔板、恒温水浴锅。

样本处理:

称取风干过 30-50 目筛土壤约 0.1g, 备用。

测定步骤:

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 490nm, 蒸馏水调零。
2. 样本测定, (在 EP 管中依次加入下列试剂):

	空白管	标准管	对照管	测定管
样本 (g)			0.05 g	0.05 g
标准液 (μL)		40		
双蒸水 (μL)	40			
AK443-A (μL)	200	200	240	200
AK443-B (μL)				40
充分混匀, 30℃, 震荡 1h				
AK443-C (μL)	160	160	160	160
10000g, 25℃, 离心 5min, 取 200μL 上清于微量石英比色皿/96 孔板中测定 490nm 处吸光值 A, ΔA1=A 标准管-A 空白管, ΔA2=A 测定管-A 对照管				

注意: 空白管和标准管只需测定一次。

酶活性计算公式:

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

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。

单位定义: 每 g 土样每分钟催化产生 1μg 葡萄糖定义为一个酶活力单位。

FDA 活性 (μmol/d/g) = (ΔA2÷ΔA1×C 标准品)×V 反应÷W = 0.96×(ΔA2÷ΔA1)÷W

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

酶活性定义：每克土壤每天产生 1 μ mol 荧光素的量为一个酶活力单位。

FDA 活性 (μ mol/d/g) = $(\Delta A2 \div \Delta A1 \times C \text{ 标准品}) \times V \text{ 反应} \div W = 0.96 \times (\Delta A2 \div \Delta A1) \div W$

注：C 标准品：标准品浓度 100 μ mol/L；V 反应：反应总体积，0.4mL；W：样本质量，g

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，若吸光值较高，请进行适当的稀释再测定，并在计算公式中乘以稀释倍数。