

产品说明书

土壤荧光素二乙酸酯（FDA）水解酶检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1844

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/48S 96T/96S

产品简介

土壤 FDA 水解酶（S-FDA）与微生物活性、土壤酶活性、总碳、全氮、全磷等土壤养分指标密切相关，能够反映系统中有机质的转化及土壤中微生物的活性状态，可作为土壤质量研究中重要的生物学指标。本试剂盒提供了一种简单易用的比色法，用于分析土壤 FDA 水解酶的活性。其原理是土壤 FDA 水解酶能够催化荧光素二乙酸酯（FDA）水解并经脱水反应生成荧光素，产物在 490nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可表征土壤 FDA 水解酶的活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	30mL	60mL	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	-20℃避光保存
标准品	1mL	1mL	4℃保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 490nm 处的吸光度）烘箱、水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

台式离心机、振荡器、30~50 目筛

DMSO、去离子水

试剂准备

试剂一：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂二：临用前每瓶加入 2mL DMSO 充分溶解备用；用不完的试剂分装-20℃保存。可保存 3 个月，如果溶液颜色变得很黄，说明已变质，应丢弃。

标准品：标准品为 4mM ($\mu\text{mol/mL}$) 的荧光素溶液，使用前，平衡到室温；4℃保存。

标准曲线设置：按下表所示，用 DMSO 将 4 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品稀释为 0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.0063 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液。

	标准晶体积 (μL)	DMSO 体积 (μL)	标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
标准品 1	20 μL of 4 $\mu\text{mol/mL}$	180	0.4
标准品 2	100 μL of 标准品 1 (0.4 $\mu\text{mol/mL}$)	100	0.2
标准品 3	100 μL of 标准品 2 (0.2 $\mu\text{mol/mL}$)	100	0.1
标准品 4	100 μL of 标准品 3 (0.1 $\mu\text{mol/mL}$)	100	0.05
标准品 5	100 μL of 标准品 4 (0.05 $\mu\text{mol/mL}$)	100	0.025
标准品 6	100 μL of 标准品 5 (0.025 $\mu\text{mol/mL}$)	100	0.0125
标准品 7	100 μL of 标准品 6 (0.0125 $\mu\text{mol/mL}$)	100	0.0063

产品说明书

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30–50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 490nm，可见分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.05	0.05	0	0
标准溶液 (μL)	0	0	40	0
DMSO (μL)	0	0	0	40
试剂一 (μL)	200	240	200	200
试剂二 (μL)	40	0	0	0
充分混匀，30℃，震荡 1h				
DMSO (μL)	160	160	160	160

充分混匀，10,000g, 25℃，离心 5min，取 200 μL 上清于 96 孔板或微量石英比色皿中测定 490nm 处吸光值 A，管计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，空白和标准曲线只需要测一次。

注意：实验之前建议选择 2–3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量；如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 1.5，可适当减少样本量，注意调整公式中的样本质量 W。

结果计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准品浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入方程计算出 y 值 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)。

2. 土壤 FDA 水解酶活力计算：

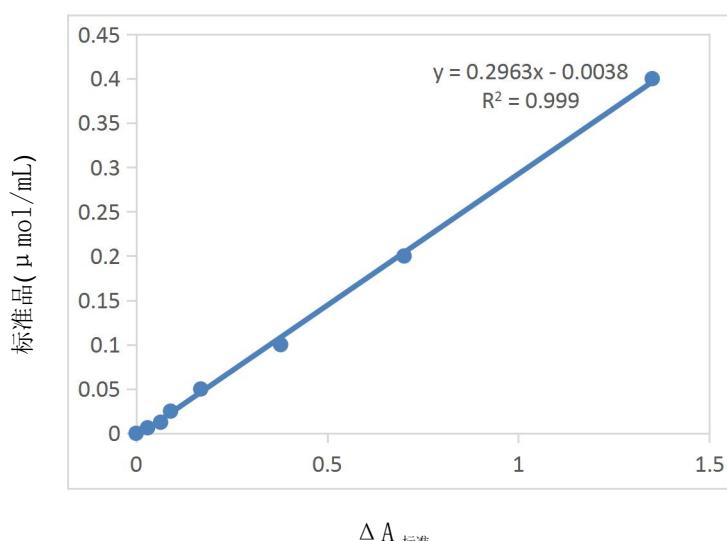
酶活力单位定义：每天每 g 土样在反应体系中产生 1 μmol 荧光素定义为一个酶活力单位 U。

土壤 FDA 水解酶活力 (U/g 土样) = $y \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 115.2 \times y$

$V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积，0.24mL；W: 样本质量，0.05g；T: 反应时间，1h=1/24d。

结果展示

典型标准曲线



产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1819 土壤脲酶 (S-UE) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1821 土壤 α -葡萄糖苷酶 (S- α -GC) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1823 土壤纤维素酶 (S-CL) / 羟甲基纤维素酶检测试剂盒 (微量法)

PMK1824 土壤过氧化氢酶 (S-CAT) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1825 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1826 土壤蔗糖酶 (S-SC) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

