

土壤 FDA 水解酶活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0485

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 50 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 支	-20℃保存
标准品	粉剂×1 瓶	-20℃保存

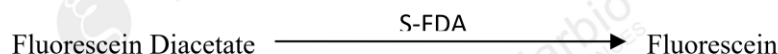
溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前取 1 支加 1 mL 丙酮溶解，用不完的-20℃分装保存一周，避免反复冻融；
- 2、标准品：10 mg 荧光素，临用前加入 1.515mL 丙酮溶解完全，可 45℃水浴促进溶解，再加入 1.515mL 蒸馏水混匀配制成 10 μmol/mL 的荧光素标准溶液，-20℃分装保存两周，避免反复冻融。

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。



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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、台式离心机、恒温水浴锅/恒温培养箱、丙酮(>98%，AR)、研钵、30-50 目筛。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。（土样要求参考注意事项 1.）

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min，调节波长至 490nm，分光光度计用 50%丙酮调零。
2. 标准溶液的稀释：取 100μL 10μmol/mL 荧光素标准液，加入 400μL 50%丙酮，充分混匀，配制成 2μmol/mL 标准液待测（即标准管），取 500μL 50%丙酮作为 0μmol/mL 标准液待测（即空白管），现用现配。（实验中每管需要 200μL，为减小实验误差，故配制大体积）。
3. 分别吸取标准液 200μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中，测定 490nm 下的吸光度，记为 A 标准、A 空白。计算 ΔA 标准=A 标准-A 空白。（空白管和标准管只需测定 1-2 次）。





4. 样本测定

加入试剂 (μL)	对照管	测定管
样本 (g)	0.03	0.03
试剂一	150	150
丙酮	135	-
试剂二	15	15
充分混匀, 置于 37°C 恒温水浴锅或 37°C 恒温培养箱中, 准确反应 1h, 期间每隔 10min 震荡一次。		
丙酮	-	135
10000g, 25°C, 离心 5min, 取 200μL 上清于微量玻璃比色皿/96 孔板中, 测定 490nm 处吸光值 A, 分别记为 A 测定、A 对照。计算 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。		

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。

FDA 活性 (U/g 土样) = $(\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times C_{\text{标准品}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 14.4 \times (\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \div W$

C 标准品: 标准品浓度 2μmol/mL; V 反应: 反应总体积, 0.3mL; 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本, 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, 可适当减少土样质量再测定。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。

实验实例:

- 1、分别取两管 0.03g 三叶草土于 1.5mLEP 管中, 分别为对照管及测定管, 按照测定步骤操作, 取上清稀释 4 倍进行测定, 用 96 孔板测定吸光值, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.883 - 0.063 = 0.82$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.275 - 0.044 = 0.231$, 按土壤质量计算酶活得:

FDA 活性 (U/g 土样) = $14.4 \times (\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \div W \times 4$ (稀释倍数) = 6815.584 U/g 土样。

- 2、分别取两管 0.03g 林土于 1.5mLEP 管中, 分别为对照管及测定管, 按照测定步骤操作, 取上清稀释 4 倍进行测定, 用 96 孔板测定吸光值, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}} = 0.634 - 0.050 = 0.584$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}} = 0.275 - 0.044 = 0.231$, 按土壤质量计算酶活得:

FDA 活性 (U/g 土样) = $14.4 \times (\Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}}) \div W \times 4$ (稀释倍数) = 4854.026 U/g 土样。

相关发表文献:

[1] Li Z, Song Z, Qiu L, Cao Y, Gu H, Wang Z, Liu X, Qian X. Quantitative distribution and quantized ecological threat of microplastics in farmland: Shanghai as an example. J Hazard Mater. 2023 Nov 23; 465:133069. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.133069. Epub ahead of print. PMID: 38056264.

[2] Xiang Y, Li S, Rene ER, Xiaoxiu L, Ma W. Enhancing fluoroglucocorticoid defluorination using defluorinated functional strain Acinetobacter. pittii C3 via humic acid-mediated biotransformation. J Hazard Mater. 2022 Aug 15; 436:129284. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.129284. Epub 2022 Jun 6. PMID: 35739793.

[3] Meng X, Wang L, Zhao N, Zhao D, Shen Y, Yao Y, Jing W, Man S, Dai Y, Zhao Y. Stimuli-responsive cancer nanomedicines inhibit glycolysis and impair redox homeostasis. Acta Biomater. 2023 Sep 1; 167:374-386. doi: 10.1016/j.actbio.2023.06.016. Epub 2023 Jun 19. PMID: 37343908.



[4] Wang W, Xie Y, Li H, Dong H, Li B, Guo Y, Wang Y, Guo X, Yin T, Liu X, Zhou W. Responses of lettuce (*Lactuca sativa* L.) growth and soil properties to conventional non-biodegradable and new biodegradable microplastics. *Environ Pollut*. 2024 Jan 15; 341:122897. doi: 10.1016/j.envpol.2023.122897. Epub 2023 Nov 8. PMID: 37949158.

[5] Wang L, Li J, Zhang S. A Comprehensive Network Integrating Signature Microbes and Crucial Soil Properties During Early Biological Soil Crust Formation on Tropical Reef Islands. *Front Microbiol*. 2022 Mar 17; 13:831710. doi: 10.3389/fmicb.2022.831710. PMID: 35369528; PMCID: PMC8969229.

参考文献:

[1] Sánchez-Monedero M A, Mondini C, Cayuela M L, et al. Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amended soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2008, 44(6): 885-890.

[2] Paudel B R, Udawatta R P, Anderson S H. Agroforestry and grass buffer effects on soil quality parameters for grazed pasture and row-crop systems[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, 48(2): 125-132.

相关系列产品:

BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒

BC0140/BC0145 土壤酸性磷酸酶 (S-ACP) 活性检测试剂盒

BC0460/BC0465 土壤中性磷酸酶 (S-NP) 活性检测试剂盒

BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒

