



土壤酸性转化酶活性检测试剂盒

S-AI Assay Kit

分光光度法

产品编号: AK435V

产品规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK435-A	100mL×1 瓶	4℃保存;
AK435-B	粉剂×2 瓶	4℃保存; 临用前取1瓶加入15mL AK435-A充分溶解备用; 剩余试剂4℃保存两周;
AK435-C	30mL×1 瓶	4℃保存;
AK435-标准品	粉剂×1 支	4℃保存; 临用前加入 1 mL AK435-A充分溶解, 制备 10 mg/mL标准溶液待用, 4℃可保存两周。

※ 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: 土壤酸性转化酶 (Solid-Acid invertase, S-AI) 在 pH 为 4.5~5.0 (酸性) 条件下催化蔗糖不可逆地分解为果糖和葡萄糖, 是土壤微生物蔗糖代谢关键酶之一。

原理: S-AI 催化蔗糖降解产生还原糖, 进一步与 3,5-二硝基水杨酸反应, 生成棕红色氨基化合物, 在 540nm 有特征光吸收, 在一定范围内 540nm 光吸收增加速率与 S-AI 活性成正比。

自备用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、移液器、30~50 目筛、研钵、甲苯 (>98%, AR)、1ml 玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

粗酶液提取:

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品的制备: 将 10mg/ml 标准品用试剂 A 稀释至 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05mg/mL。
3. 样本测定:

试剂名称	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样	0.1 g	0.1 g		
AK435-A		800		800
AK435-B	800			
标准液			800	
甲苯	20	20	20	20
混匀, 37℃准确水浴 1h, 95℃水浴 10min 左右 (盖紧, 以防水分散失), 流水冷却, 充分混匀 (以保证浓度不变), 10000rpm, 常温离心 10min, 取上清液				
上清液	700	700	700	700
AK435-C	300	300	300	300
混匀, 95℃水浴 10min (盖紧, 以防止水分散失, 若有混浊物, 离心取上清即可), 流水冷却后充分混匀, 540nm 处, 记录各管吸光值 A, 分别记为 A 对照管, A 测定管, A 标准管, A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。				

注：每个测定管需设一个对照管，标准管和空白管只需检测 1-2 次。

S-AI 活性计算：

1. 标准曲线的建立：以各浓度下吸光值减空白管的吸光度为 y 轴，标准品浓度为 x 轴绘制标准曲线，根据标准曲线，将 ΔA 带入方程得到 x (mg/mL)。

2. S-AI 活力计算：

单位定义：37℃下每天每 g 土样中产生 1mg 还原糖定义为一个 S-AI 活力单位。

S-AI 活力 (U/g 土样) = $x \times V_{\text{标}} \div W \div T = 19.2x \div W$

注：V 标：加入的标准液体积：0.8mL；T：反应时间，1/24d；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 若吸光值不在标曲范围之内，视情况可以增加或减少样本量或者将上清液进行稀释，并应注意调整计算公式中的相应数值。

2. 如果加入试剂 C 煮沸 10min 后有混浊物出现，离心除去沉淀(10000rpm, 2min)，取上清测定吸光度。