

土壤芳基硫酸酯酶（Solid-aryl sulfatase, S-ASF）试剂盒说明书

微量法 100管/48样

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

土壤芳基硫酸酯酶来自于土壤微生物，能酶促土壤有机硫化物转化为植物可吸收的无机态硫，在硫素的生物化学循环和植物的硫营养代谢中具有重要的作用，是反映土壤质量的一个重要生物学指标。

测定原理：

S-ASF能够催化对-硝基苯硫酸钾生成对-硝基苯酚，后者在410nm有特征光吸收。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96孔板、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：甲苯5mL×1瓶，4°C保存（自备）；

试剂二：液体20mL×1瓶，4°C保存；

试剂三：粉剂×2支，-20°C保存；临用前加入1.25mL蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20°C保存；

试剂四：液体5mL×1瓶，4°C保存；

试剂五：液体20mL×1瓶，4°C保存；

样品处理：

新鲜土样自然风干或37度烘箱风干，过30~50目筛。

测定步骤：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.05	0.05
试剂一（ μL ）	12.5	12.5

振荡混匀，使土样全部湿润，室温放置15min

试剂二（ μL ）	200	200
试剂三（ μL ）	50	
蒸馏水（ μL ）		50

混匀，37°C水浴1h后

试剂四 (μL)	50	50
试剂五 (μL)	200	200

充分混匀，室温静置2min后，10000g 25°C离心10min，取200μL上清液于410nm处测定吸光值A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

S-ASF活力计算：

a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0066x - 0.013$ ；x为标准品浓度 (μmol/L)，y为吸光值。

单位的定义：每天每g土样中产生1 μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-ASF活力 (μmol/d /g 土样) = $(\Delta A + 0.013) \div 0.0066 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 19.09 \times (\Delta A + 0.013)$

T：反应时间，1h=1/24d；V反总：反应体系总体积：2.625×10⁻⁴ L；W：样本质量，0.05g。

b.用96孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0033x - 0.013$ ；x为标准品浓度 (μmol/L)，y为吸光值。

单位的定义：每天每g土样中产生1 μmol对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

S-ASF活力 (μmol/d /g 土样) = $(\Delta A + 0.013) \div 0.0033 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 38.19 \times (\Delta A + 0.013)$

T：反应时间，1h=1/24d；V反总：反应体系总体积：2.625×10⁻⁴ L；W：样本质量，0.05g。