

土壤酸性转化酶（Solid-Acid invertase, S-AI）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：

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。

测定原理：

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510nm有特征光吸收，在一定范围内510nm光吸收增加速率与AI活性成正比。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、移液器、微量石英比色皿/96孔板和蒸馏水。

试剂组成和配制：

试剂一：液体50mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×1瓶，4℃保存；临用前加入25mL试剂一充分溶解备用；用不完的试剂4℃保存；

试剂三：液体10mL×1瓶，4℃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。

测定步骤和加样表：

试剂名称（μL）	测定管	对照管
风干土样（g）	0.05	0.05
试剂一		400
试剂二	400	

混匀，37℃准确水浴30min后，95℃水浴10min（盖紧，以防水分散失），流水冷却后

充分混匀（以保证浓度不变），10000g 25℃离心10min，取上清液

上清液	200	200
试剂三	100	100

混匀，95℃水浴10min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，510nm处，记录各管吸光值A，如果吸光值大于2，可以用蒸馏水稀释后测定(计算公式中乘以相应稀释倍数)， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

S-AI活性计算：

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 $y = 0.0016x - 0.001$ ；x为标准品浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ），y为吸光值。

单位的定义：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（ mg/d/g土样 ）= $[(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \div 1000 = 240 \times (\Delta A + 0.001)$

V反总：反应体系总体积：0.4mL； T：反应时间，1/48d； W：样本质量，0.05g； 1mg=1000 μg 。

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 $y = 0.0008x - 0.001$ ；x为标准品浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ），y为吸光值。

单位的定义：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（ mg/d/g土样 ）= $[(\Delta A + 0.001) \div 0.0008 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \div 1000 = 480 \times (\Delta A + 0.001)$

V反总：反应体系总体积：0.4mL； T：反应时间，1/48d； W：样本质量，0.05g； 1mg=1000 μg 。

www.affandi-e.com