



土壤酸性转化酶活性检测试剂盒

S-AI Assay Kit

微量法

产品编号: AK435M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK435-A	50mL×1 瓶	4℃ 保存;
AK435-B	粉剂×1 瓶	4℃ 保存; 临用前加入25mL试AK435-A充分溶解备用; 剩余试剂4℃ 保存;
AK435-C	10mL×1 瓶	4℃ 保存;
AK435-标准品	粉剂×1 支	10 mg 无水葡萄糖。临用前加入 1 mL 试剂一充分溶解, 制备 10 mg/mL 葡萄糖标准溶液待用, 4℃ 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 520nm 有特征光吸收, 在一定范围内 520nm 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。

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. 分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 520nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品的制备: 将标准品用蒸馏水稀释至 1.5、1.2、1、0.8、0.5、0.2、0mg/mL (0mg/mL 为空白管)。
3. 样本测定, (在 EP 管中依次加入下列试剂):

试剂名称	对照管 (μL)	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样	0.05 g	0.05 g		
AK435-A	400	400		
AK435-B		400		
蒸馏水	400			
混匀, 37℃ 准确水浴 30min, 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), 10000g 25℃ 离心 10min, 取上清液				
上清液	200	200		
标准溶液			200	
蒸馏水				200
AK435-C	100	100	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, 520nm 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), 分别记为 A 对照管, A 测定管, A 标准管, A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。每个测定管需设一个对照管 (标准曲线只需检测 1-2 次)。每个测定管需要设一个对照管。				

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（浓度为 0mg/mL）的吸光度为 y 轴，葡萄糖浓度为 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：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) = $x \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 192x$

注：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。