



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	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	20mL×1 瓶	4℃ 保存；
AK-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、台式离心机、水浴锅、移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

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	0.1g	0.1g		
AK435-A	800			
AK435-B		800		
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	700	700		
标准溶液			700	
蒸馏水				700
AK435-C	350	350	350	350
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，蒸馏水调零，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：0.8mL；T：反应时间，1/48d； W：样本质量，0.1g。