

## 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

**注 意：**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（ $\mu\text{L}$ ）	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）=  $[(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V \text{ 反总} \div W \div T \div 1000] \times 240 = 240 \times (\Delta A + 0.001)$

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 $\mu\text{g}$ 。

#### 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 $\mu$ g。

---