

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：

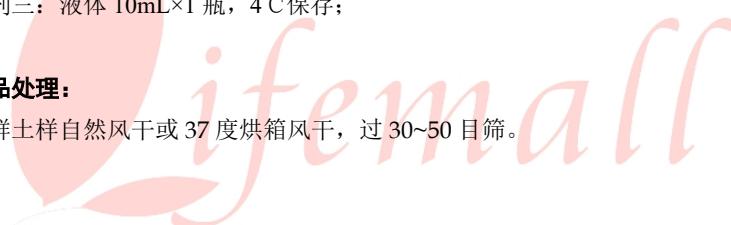
试剂一：液体 50mL×1 瓶，4℃保存；

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。



Lifemall.asia
To be with you

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°C准确水浴 30min 后， 95°C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°C离心 10min，取上清液

上清液	200	200
试剂三	100	100

混匀， 95°C水浴 10min (盖紧，以防水分散失)，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 $y = 0.0016x - 0.001$ ；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。

$$\text{S-AI 活力 (mg/d/g 土样)} = [(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \div 1000] = 240 \times (\Delta A + 0.001)$$

$V_{\text{反总}}$: 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。

$$\text{S-AI 活力 (mg/d/g 土样)} = [(\Delta A + 0.001) \div 0.0008 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \div 1000] = 480 \times (\Delta A + 0.001)$$

$V_{\text{反总}}$: 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 。