

土壤芳基硫酸酯酶（S-ASF）检测试剂盒（微量法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

土壤芳基硫酸酯酶来自于土壤微生物，能酶促土壤有机硫化物转化为植物可吸收的无机态硫，在硫素的生物化学循环和植物的硫营养代谢中具有重要的作用，是反映土壤质量的一个重要生物学指标。

测定原理：

S-ASF 能够催化对-硝基苯硫酸钾生成对-硝基苯酚，后者在 410nm 有特征光吸收。

试剂组成和配制：

试剂一：甲苯 5mL×1 瓶，4℃ 保存（自备）；

试剂二：液体 20mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂三：粉剂×2 支，-20℃ 保存；临用前加入 1.25mL 蒸馏水，充分溶解备用，用不完的试剂仍-20℃ 保存；

试剂四：液体 5mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂五：液体 20mL×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：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样（g）	0.05	0.05
试剂一（ μL ）	12.5	12.5

振荡混匀，使土样全部湿润，室温放置 15min

试剂二（ μL ）	200	200
试剂三（ μL ）	50	
蒸馏水（ μL ）		50

混匀，37℃ 水浴 1h 后

试剂四（ μL ）	50	50
试剂五（ μL ）	200	200

充分混匀，室温静置 2min 后，10000g 25℃ 离心 10min，取 200 μL 上清液于 410nm 处测定吸光值 A，

计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

S-ASF 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

$$y = 0.0066x - 0.013; \quad x \text{ 为标准品浓度 } (\mu\text{mol/L}), y \text{ 为吸光值。}$$

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-ASF 活力 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.013) \div 0.0066 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \\ &= 19.09 \times (\Delta A + 0.013) \end{aligned}$$

T: 反应时间, 1h=1/24d;

V 反总: 反应体系总体积: 2.625×10^{-4} L;

W: 样本质量, 0.05g。

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

$$y = 0.0033x - 0.013; \quad x \text{ 为标准品浓度 } (\mu\text{mol/L}), y \text{ 为吸光值。}$$

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1 μmol 对-硝基苯酚定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{T-ASF 活力 } (\mu\text{mol/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.013) \div 0.0033 \times V_{\text{反总}} \div W \div T \\ &= 38.19 \times (\Delta A + 0.013) \end{aligned}$$

T: 反应时间, 1h=1/24d;

V 反总: 反应体系总体积: 2.625×10^{-4} L;

W: 样本质量, 0.05g。