

土壤芳基硫酸酯酶（S-ASF）检测试剂盒（分光光度法）

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)	0.1	0.1
试剂一 (μL)	25	25

振荡混匀, 使土样全部湿润, 室温放置 15min

试剂二 (μL)	400	400
试剂三 (μL)	100	
蒸馏水 (μL)		100

混匀, 37°C水浴 1h 后

试剂四 (μL)	100	100
试剂五 (μL)	400	400

充分混匀, 室温静置 2min 后, 10000g 25°C 离心 10min, 取 800μL 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:

标准条件下测定的回归方程为 $y = 0.0066x - 0.013$; x 为标准品浓度 (μmol/L), y 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。

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

T: 反应时间, 1h=1/24d;

V 反应: 反应体系总体积: 5.25×10^{-4} L;

W: 样本质量, 0.1g。