

土壤酸性转化酶（S-AI）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：

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。

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 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。

测定步骤和加样表:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.1	0.1
试剂一		800
试剂二	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
试剂三	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, 510nm 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), $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

S-AI 活性计算:

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 (μg/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。

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

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;

1000: 1mg=1000μg。