

## 土壤酸性转化酶（S-AI）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：

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 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。

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

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。

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

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 $\mu\text{g}$ 。