

土壤酸性转化酶 (Solid-Acid invertase, S-AI) 试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 样

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、台式离心机、水浴锅、移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

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 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。

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

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。