

上海茁彩生物科技有限公司  
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

## 土壤酸性转化酶（S-AI）检测试剂盒说明书

可见分光光度法

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定

### 产品内容：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 100mL×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	-
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	10mg 无水葡萄糖。临用前加入 1mL 试剂一溶解，制备 10mg/mL葡萄糖标准液备用。

### 产品说明：

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。

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 540nm 有特征光吸收，在一定范围内 540nm 光吸收增加速率与 AI 活性成正比。

### 试验中所需的仪器和试剂：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水、甲苯。

### 操作步骤：

#### 一、样品处理：

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30~50 目

#### 筛。二、测定步骤及加样表：

1、分光光度计/酶标仪预热 30min，波长调至 540nm，蒸馏水调零。

2、标准液的稀释：将 10mg/mL 葡萄糖标准液用试剂一稀释至 4、3、2、1、0.8、0.6 mg/mL 的葡萄糖标准溶液备用

### 3、加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
土样 (g)	0.1	0.1	-	-
试剂一 (μL)	-	800	-	800
试剂二 (μL)	800	-	-	-
标准液 (μL)	-	-	800	-
甲苯 (μL)	20	20	20	20
混匀，37°C准确水浴 1h 后，煮沸 10min 左右（盖紧，以防止水分散失），流水或冰浴冷却后充分混匀（以保证浓度不变），10000rpm，常温离心 10min，取上清 150 μL 与 600 μL 试剂一混合即将上清液稀释 5 倍。				
上清稀释液 (μL)	700	700	700	700
试剂三 (μL)	300	300	300	300

混匀，煮沸 10min 左右（盖紧，以防止水分流失），流水冷却后充分混匀，540nm 处蒸馏水调零，记录各管吸光值A，记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

### 三、S-AI 活性计算：

#### 1、标准曲线的绘制：

以葡萄糖浓度为 x 轴，相应的  $\Delta A$  标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y = kx + b$ ；将  $\Delta A$  带入公式得到 x (mg/mL)

#### 2、S-AI 活性计算

单位定义：37°C 每 g 土壤每天产生 1mg 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$S-AI (U/g) = x \times V_{\text{酶促}} \div W \div T$$

V 酶促：酶促反应总体积，0.820mL；W：样本鲜重，g；T：反应时间：1/24d；

### 注意事项：

- 1、如果加入试剂三，煮沸 10min 后有混浊物出现，建议离心除去沉淀（10000rpm，2min），取上清测定吸光度；
- 2、如果吸光值大于 1，可以将上清液再进行稀释；若吸光值较小，可以减少上清液稀释倍数。两种操作均要注意改变公式中的稀释倍数。