

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

注 意：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)， $\Delta A = A$ 测定 -A 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 ($\mu\text{g/mL}$), 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。

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

V 反总: 反应体系总体积: 0.8mL ; T : 反应时间, $1/48\text{d}$; W : 样本质量, 0.1g ; 1000 : $1\text{mg} = 1000\mu\text{g}$ 。