

## 土壤酸性转化酶（S-AI）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1327

产品规格：100管/48样

### 产品简介：

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S-AI活性成正比。

**注意：**实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体40mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	液体10mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入10mL试剂一充分溶解备用，用不完的试剂4℃保存；
2. 标准品：10mg无水葡萄糖，临用前加入1mL试剂一充分溶解，制备10mg/mL葡萄糖标准溶液待用。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰、蒸馏水、30-50目筛、甲苯。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可参考文献）

新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干，过30~50目筛。

#### 二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至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0.4、0.3、0.2、0.1、0.08、0.06 mg/mL的葡萄糖标准液备用。
3. 样本测定：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样（g）	0.02	0.02	-	-
试剂一（ $\mu$ L）	-	160	-	160
试剂二（ $\mu$ L）	160	-	-	-
标准液（ $\mu$ L）	-	-	160	-
甲苯（ $\mu$ L）	4	4	4	4

混匀，37℃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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

冷却后充分混匀（以保证浓度不变），10000rpm，常温离心 10min，取上清。				
上清（ $\mu\text{L}$ ）	140	140	140	140
试剂三（ $\mu\text{L}$ ）	60	60	60	60

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。

$$\text{S-AI (U/g 土样)} = x \times V \div W \div T = 3.84 \times x \div W$$

V：加入的标准液体积，0.16mL；W：样本质量，g；T：反应时间：1/24d。

#### 注意事项：

- 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；
- 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。

#### 实验实例：

- 取两管 0.02g 林土，即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.278 - 0.066 = 0.212$ ，标准曲线： $y = 3.6249x - 0.1862$ ， $x = 0.1099$ ，计算酶活得：  
 $\text{S-AI (U/g 土样)} = 3.84 \times x \div W = 3.84 \times 0.1099 \div 0.02 = 21.1008 \text{U/g 土样}$ 。
- 取两管 0.02g 林土，即为测定管和对照管，按照测定步骤操作，记为 A 测定管、A 对照管。用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.272 - 0.066 = 0.206$ ，标准曲线： $y = 3.6249x - 0.1862$ ， $x = 0.1082$ ，计算酶活得：  
 $\text{S-AI (U/g 土样)} = 3.84 \times x \div W = 3.84 \times 0.1082 \div 0.02 = 20.7744 \text{U/g 土样}$ 。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com