

土壤酸性转化酶（S-AI）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC3075

规格：100T/48S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

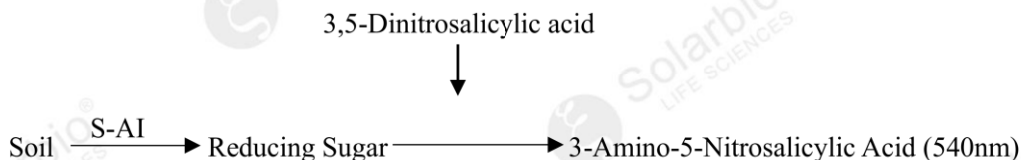
试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前取 1 瓶加入 5 mL 试剂一充分溶解备用，用不完的试剂 2-8℃保存 2 周；
- 2、标准品：10 mg 无水葡萄糖。临用前加入 1 mL 试剂一充分溶解，制备 10 mg/mL 葡萄糖标准溶液待用 2-8℃保存两周。

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 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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、恒温培养箱/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、蒸馏水、30-50 目筛、冰、甲苯（>98%，AR）。

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，分光光度计蒸馏水调零。
- 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、标准液稀释表

序号	稀释前浓度 (mg/mL)	标准液体积 (μL)	试剂一体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	50	950	0.5
2	0.5	160	40	0.4
3	0.5	120	80	0.3
4	0.5	80	120	0.2
5	0.5	40	160	0.1
6	0.5	32	168	0.08
7	0.5	24	176	0.06

备注：下述试验中每个标准管需标准品160μL（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

4、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 (μL)	-	160	-	160
试剂二 (μL)	160	-	-	-
标准液 (μL)	-	-	160	-
甲苯 (μL)	4	4	4	4
混匀，于37℃水浴/恒温培养箱准确反应1h后，煮沸10min左右（缠封口膜，防止爆盖），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。				
上清 (μL)	140	140	140	140
试剂三 (μL)	60	60	60	60

混匀，煮沸 10min 左右（缠封口膜，防止爆盖），流水冷却后，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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管， ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

三、S-AI 活性计算

1、标准曲线的绘制：

根据葡萄糖标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定 (y, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2、S-AI 活性计算

单位定义：37℃每 g 土壤每天产生 1mg 还原糖定义为一个酶活性单位。

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

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：

- 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。

实验实例：



本产品仅供科学研究使用。请勿用于临床、诊断、食品、化妆品检测等用途。

For research use only. Do not use for clinical, diagnostic, food, cosmetic testing and other purposes.

- 1、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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.278 - 0.066 = 0.212$ ，标准曲线： $y = 3.6249x - 0.1862$ ， $x = 0.1099$ ，计算酶活得： $S\text{-AI (U/g 土样)} = 3.84 \times x \div W = 3.84 \times 0.1099 \div 0.02 = 21.1008 \text{ U/g 土样}$ 。
- 2、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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.272 - 0.066 = 0.206$ ，标准曲线： $y = 3.6249x - 0.1862$ ， $x = 0.1082$ ，计算酶活得： $S\text{-AI (U/g 土样)} = 3.84 \times x \div W = 3.84 \times 0.1082 \div 0.02 = 20.7744 \text{ U/g 土样}$ 。

相关发表文献：

- [1] Miao L, Li Q, Sun TS, Chai S, Wang C, Bai L, Sun M, Li Y, Qin X, Zhang Z, Yu X. Sugars promote graft union development in the heterograft of cucumber onto pumpkin. *Hortic Res.* 2021 Jul 1;8(1):146. doi: 10.1038/s41438-021-00580-5. PMID: 34193850; PMCID: PMC8245404.
- [2] Sun L, Zhang J, Zhao J, Lu X, Xiao C, Xiao Z, Zhang T, Gu Y, Sun H, Liu H, Li Y. Effects of Cinnamomum camphora coppice planting on soil fertility, microbial community structure and enzyme activity in subtropical China. *Front Microbiol.* 2023 Feb 3;14:1104077. doi: 10.3389/fmicb.2023.1104077. PMID: 36819046; PMCID: PMC9936984.
- [3] Xie Y, Liao X, Liu J, Chen J. A Case Study Demonstrates That the Litter of the Rare Species Cinnamomum migao Composed of Different Tissues Can Affect the Chemical Properties and Microbial Community Diversity in Topsoil. *Microorganisms.* 2022 May 30;10(6):1125. doi: 10.3390/microorganisms10061125. PMID: 35744643; PMCID: PMC9231042.
- [4] Wang X, Li Z, Jin H, Huang X, Xiao X, Zi S, Liu T. Effects of mushroom-tobacco rotation on microbial community structure in continuous cropping tobacco soil. *J Appl Microbiol.* 2023 May 8;lxad088. doi: 10.1093/jambio/lxad088. Epub ahead of print. PMID: 37156515.
- [5] Muhammad I, Yang L, Ahmad S, Zeeshan M, Farooq S, Ali I, Khan A, Zhou XB. Irrigation and Nitrogen Fertilization Alter Soil Bacterial Communities, Soil Enzyme Activities, and Nutrient Availability in Maize Crop. *Front Microbiol.* 2022 Feb 3;13:833758. doi: 10.3389/fmicb.2022.833758. PMID: 35185852; PMCID: PMC8851207.

相关系列产品：

- BC4040/BC4045 土壤中性转化酶 (S-NI) 活性检测试剂盒
BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒

