

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(μL)	-	160	-	160
试剂二(μL)	160	-	-	-
标准液(μL)	-	-	160	-
甲苯(μL)	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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

试剂三 (μL)	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 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ；将 ΔA 带入公式得到 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。

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

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：

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：

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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com