

土壤芳基硫酸酯酶 (S-ASF) 试剂盒说明书

(货号: ADS-F-TR042 分光法 24 样)

一、产品简介:

土壤芳基硫酸酯酶 (EC 3.1.6.1) 来自于土壤微生物, 能酶促土壤有机硫化物转化为植物可吸收的无机态硫, 在硫素的生物化学循环和植物的硫营养代谢中具有重要的作用, 是反映土壤质量的一个重要生物学指标。

土壤芳基硫酸酯酶(S-ASF)能够催化对-硝基苯硫酸钾生成对-硝基苯酚 (PNP), 后者在 410nm 有特征光吸收。通过测定 410nm 光吸收增加速率, 即可计算 S-ASF 酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 2 支	-20°C保存	使用前甩几下使试剂落入底部, 每支加 1.5mL 试剂二溶解备用。
试剂二	液体 21mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液 23mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉剂 1 支	4°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、甲苯 (自备) 和蒸馏水。

四、土壤芳基硫酸酯酶 (S-ASF) 活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本的制备:

取新鲜土样风干或者 37°C烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 410nm, 蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1	0.1
甲苯	18	18
振荡混匀, 使土样全部湿润, 室温放置 10min		
试剂一	90	
试剂二	360	450
混匀, 37°C振荡反应 1h		
试剂三	450	450
混匀, 室温静置 2min, 12000rpm 室温离心 10min, 取全部上清液于 1mL 玻璃比色皿中, 于 410nm 下读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本需做一个自身对照)。		

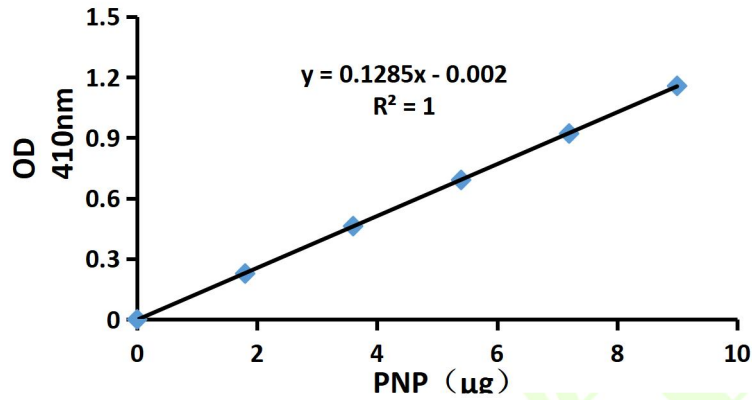
【注】: 1.若 ΔA 过小, 可以增加土样量 (如至 0.2g) 或延长保温时间 (如: 2h 或更长), 重新调整的样本量 W 和反应时间 T 需代入计算公式重新计算。

2.若 A 测定超过 1.5, 可取一半上清液加等体积蒸馏水 (相当于稀释 2 倍) 于 1mL 玻璃比色皿中检测, 或者减少土样量, 或者降低保温时间 (如: 10min), 则稀释倍数 D 和重新调整的样本量 W 和反应时间 T

需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.1285x - 0.002$ ； x 为标准品质量 (μg)， y 为吸光值 ΔA 。



2、单位定义：每小时每克土样中产生 $1\mu\text{g}$ 对-硝基苯酚 (PNP) 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤芳基硫酸酯酶(S-ASF)活性}(\mu\text{g/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.002) \div 0.1285 \div W \div T \\ &= 7.8 \times (\Delta A + 0.002) \div W \end{aligned}$$

T---反应时间，1h；

W---实际称取干土质量；

PNP 相对分子质量---139.11。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品母液 (1mg/mL)：向标准品 EP 管里面加入 1ml 蒸馏水。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品：0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 在 EP 管加入： $18\mu\text{L}$ 标准品+ $18\mu\text{L}$ 甲苯+ $432\mu\text{L}$ 试剂二+ $450\mu\text{L}$ 试剂三，混匀，取全部上清液于 1mL 玻璃比色皿中，于 410nm 下读取吸光值。
- 4 根据结果制作标准曲线。