

土壤芳基硫酸酯酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHD1-C24	土壤芳基硫酸酯酶（S-ASF）试剂盒	24T	常量法

一、测定意义：

土壤芳基硫酸酯酶是参与土壤硫素循环的重要酶类，它能水解土壤有机硫（酯硫）中的硫酸酯键，从而释放出无机硫。土壤芳基硫酸酯酶的活性与土壤无机硫量关系密切，可作为评价一定区域内土壤质量，尤其是土壤硫素营养的指标。芳基硫酸酯酶的活性随土壤剖面深度加深而减弱。

二、测定原理：

以对硝基苯硫酸盐为底物，水解生成对硝基酚，产物碱性条件下显黄色，在 400nm 有特征吸收峰。

三、试剂盒组成：

试剂编号	试剂名称	试剂装量	保存条件
R0	甲苯	自备	4℃保存
R1	试剂一	35mL×1 瓶	4℃保存
R2	试剂二	粉剂×1 瓶	-20℃保存
	试剂二应用液配制：每瓶粉剂加入试剂一 3mL，充分溶解。		
R3	试剂三	10mL×1 瓶	4℃保存
R4	试剂四	60mL×1 瓶	4℃保存
R5	标准品（1mg/mL）	1mL×1 瓶	4℃保存

四、操作步骤：

一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

二、操作步骤

1、培养反应：

	测定管	对照管
土样（g）	0.1	0.1
甲苯（μL）	50	50
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min		
试剂一（μL）	500	500
蒸馏水（μL）	-	100
试剂二应用液（μL）	100	-
混匀，37℃孵育 1h		
试剂三（μL）	100	100

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

2、显色反应：（标准品稀释详见附录 I）

	测定管	对照管	标准管
上清液（ μL ）	100	100	-
不同浓度的标准品（ μL ）	-	-	100
试剂四（ μL ）	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

注：每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；

五、单位定义与计算：

单位定义：每小时每克风干土壤中产生 $1\mu\text{g}$ 对硝基酚为一个酶活力单位

计算公式：根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y ($\mu\text{g/mL}$)

$$S\text{-ASF(U/g 土样)} = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}}) \times V_{\text{提取}} \div W \div T$$

T：反应时间，1h；

$V_{\text{提取}}$ ：提取液体积，0.7mL；

W：样本质量，0.1g。

六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现淡黄色，在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的 β -葡萄糖苷酶差异较大，根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量，也可增加反应时间。
- 3、甲苯易挥发，操作时候宜在通风橱中进行。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理：

将 1mg/mL 的标准品用双蒸水稀释成 0、3.125、6.25、12.5、25、50、100 μ g/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

标准品浓度 (μ g/mL)	0	3.125	6.25	12.5	25	50	100
标准品 (μ L)	100	100	100	100	100	100	100
试剂三 (μ L)	900	900	900	900	900	900	900

混匀，静置 10min，波长 400nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

2、测定结果：

标准品浓度 (μ g/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.002	0.000
3.13	0.046	0.044
6.25	0.088	0.086
12.5	0.174	0.172
25	0.347	0.345
50	0.672	0.670
100	1.327	1.325

