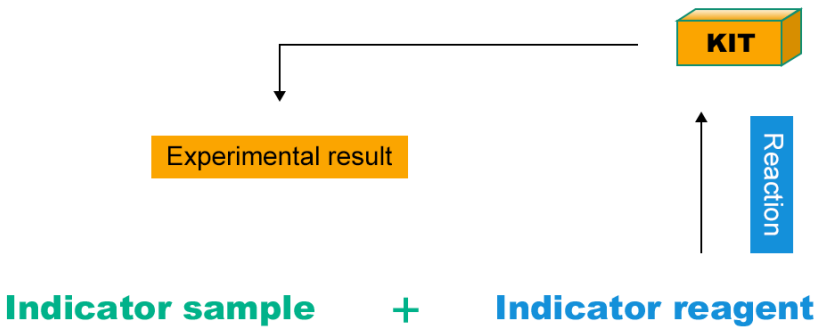
上海茁彩生物科技有限公司

ZCIBIO Technology Co.,Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO：ZC-S0549 Size：100T/48S

土壤蔗糖酶(S-SC)检测试剂盒说明书

微量法

***正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定**

一、测定意义：

S-SC 能够水解蔗糖变成相应的单糖而被机体吸收，其酶促作用产物与土壤中有机质、氮、磷含量，微生物数量及土壤呼吸强度密切关，是评价土壤肥力的重要指标。

二、测定原理：

S-SC 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-SC活性成正比。

三、需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量比色皿/96 孔板、冰、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置：

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	甲苯 1mL×1 瓶	4℃保存	自备
试剂二	液体 7.5mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前每瓶加入 22mL 双蒸水充分溶解备用；
试剂四	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	含 10mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%）临用前加入 1mL 蒸馏水溶解备用，4℃可保存 1 周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。
标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1mg/mL。			

五、操作步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2. 测定步骤和加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样（g）	0.03	0.03	-	-
试剂一（μL）	5	5	-	-
振荡混匀，使土样全部湿润，37℃水浴 15min				
试剂二（μL）	75	75	-	-
试剂三（μL）	220		-	-
双蒸水（μL）		220	-	-
混匀，放入 37℃水浴培养 24 小时，10000g，4℃，离心 5min，取上清液，将培养结束的上清液稀释 10 倍（取0.1mL 上清液，加入 0.9mL 蒸馏水）若后续测定吸光值仍大于 1.5 继续稀				

释。				
上清液（μL）	85	85		
标准品（μL）			85	
蒸馏水（μL）				85
试剂四（μL）	215	215	215	215

充分混匀，放入沸水浴中煮沸 5min（盖紧，以防止水分散失）流水冷却后充分混匀。

标准曲线的建立：540nm 处蒸馏水调零，读标准管吸光值，计算 A=A 标准管-A 空白管。以浓度（y） 为纵坐标，吸光度 A（x）为横坐标建立标准曲线。

样品处理：540nm 处蒸馏水调零，取 200ul 至微量比色皿或 96 孔板中读吸光值 A。计算ΔA=A 测定管-A 对照管。每个测定管需设一个对照管。

六、S-SC 活性计算：

根据标准曲线，将ΔA 带入公式中（x）计算样品浓度 y（mg/mL）。

单位的定义：37℃,每天每 g 土样中产生 1mg 还原糖定义为一个 S-SC 活力单位。

S-SC 活力（U /g 土样）＝ y×10×V 反总÷W÷T =100×y

10：稀释倍数；T：反应时间，1d； V 反总：反应体系总体积：0.3mL；W：样品质量，0.03g。