

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-S0832

Size: 50T/24S

土壤蔗糖酶(S-SC)检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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510nm有特征光吸收,在一定范围内510nm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、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、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 5mL×1 瓶	4℃保存	自备
试剂二	液体 15mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前每瓶加入40mL蒸馏水充分溶解备用;用不完的试剂4℃保存
试剂四	液体 30mL×1 瓶	4℃保存	

五、操作步骤：

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.1	0.1
试剂一 (μL)	15	15
振荡混匀，使土样全部湿润，37℃放置 15min		
试剂二 (μL)	250	250
试剂三 (μL)	750	
蒸馏水 (μL)		750
混匀，放入37℃水浴培养 24 小时，10000g，4℃，离心 5min，取上清液。		
上清液 (μL)	200	200
试剂四 (μL)	500	500

充分混匀，95℃水浴中煮沸 5min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，蒸馏水稀释 10 倍后（可以吸取 100ul，加入 900ul 蒸馏水稀释；如果吸光度大于 4，可以适当加大稀释倍数），510nm 处蒸馏水调零，读取吸光度 A。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ，每个测定管需设一个对照管。

标准条件下测定的回归方程式为： $y = 4.9x - 0.062$ ；x 为标准品的浓度 (mg/mL)，y 为吸光度值。

样品处理：510nm 处蒸馏水调零，读吸光值 A。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管需设一个对照管。

六、S-SC 活力的计算：

单位的定义：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 (mg/d/g 土样) = $(\Delta A + 0.062) \div 4.9 \times 10 \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 20.7 \times (\Delta A + 0.062)$.

10: 稀释倍数; T: 反应时间, 1d; V 反总: 反应体系总体积: 1.015mL; W: 样本质量, 0.1g。