

上海茁彩生物科技有限公司
Shanghai zcibio technology Co., Ltd.



生化检测原理示意图

土壤蔗糖酶 (S-SC) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

产品内容：

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
试剂四	液体 35mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉剂×1 支		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。			

产品简介：

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。

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。

试验中所需的仪器和试剂：

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、冰、甲苯（不允许快速）和蒸馏水。

操作步骤:

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
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°C 放置 15min				
试剂二 (μL)	250	250	-	
试剂三 (μL)	750		-	
蒸馏水 (μL)		750	-	
混匀, 放入 37°C 水浴培养 24 小时, 10000g, 4°C, 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)	200	200		
标准液 (μL)			200	
蒸馏水 (μL)				200
试剂四 (μL)	500	500	500	500

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 $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。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, 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。

S-SC 活力的计算:

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: 每天每 g 土样中产生 1mg 还原糖定义为一个 S-SC 活力单位。

$S-SC \text{ 活力 (U/g 土样)} = y \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 101.5 \times y$

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。