

土壤蔗糖酶(S-SC)检测试剂盒(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。

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。

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。

试剂组成和配制：

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。

样品处理：

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定步骤和加样表:

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°C 水浴 15min

试剂二 (μL)	250	250
试剂三 (μL)	750	
蒸馏水 (μL)		750

充分混匀, 放入 37°C 水浴培养 24 小时, 10000 g, 4°C, 离心 5min, 取上清液

上清液 (μL)	200	200
试剂四 (μL)	500	500

充分混匀, 95°C 水浴 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 (可吸取 100μL, 加入 900μL 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 活性计算:

标准条件下测定的回归方程为 $y = 4.9x - 0.062$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为吸光值。

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) = $(\Delta A + 0.062) \div 4.9 \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T$

$$= 20.7 \times (\Delta A + 0.062)$$

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。