

## 土壤蔗糖酶(S-SC)试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHA1-C24	土壤蔗糖酶 (S-SC) 试剂盒	24T	常量法
SMHA1-C48		48T	

### 一、测定意义

土壤蔗糖酶是土壤中的一种重要的酶类。土壤蔗糖酶与土壤中有有机质、氮、磷含量，微生物数量及土壤呼吸强度有关。土壤蔗糖酶的强弱反映了土壤的熟化程度和肥力水平，是评价土壤肥力的重要指标。

### 二、测定原理

以蔗糖为基质，经土壤蔗糖酶促基质水解为还原糖，还原糖与 3,5-二硝基水杨酸在沸水浴中反应而生产橙色的产物，颜色深度与还原糖量呈正相关，比色法测定还原糖量来表示蔗糖酶的活性。

### 三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
甲苯	自备	自备	常温
试剂一	25mL×1 瓶	30mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存
试剂二应用液的配制：每瓶粉剂中加入 60mL 蒸馏水，充分溶解，2-8℃ 保存			
试剂三	30mL×1 瓶	50mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品粉剂	10mg×1 支	10mg×1 支	2-8℃ 保存
10mg/mL 标准品的配制：用时一支粉剂中加入 1mL 蒸馏水，混匀，2-8℃ 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	基质管
土样 (g)	0.1	0.1	-
甲苯 (μL)	50	50	50
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min			
试剂一 (μL)	250	250	250

蒸馏水 (μL)	-	750	-
试剂二应用液 (μL)	750	-	750

混匀，37℃孵育 24h 后，混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

## 2、显色反应：

	测定管	对照管	基质管	标准管
稀释后的上清液 (μL)	100	100	100	-
不同浓度的标准品 (μL)	-	-	-	100
试剂三 (μL)	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却				
蒸馏水 (μL)	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540nm，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：**每天每克风干土壤中产生 1mg 还原糖为一个酶活力单位

**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 (mg/mL)

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

**T：反应时间，1d；**

**V<sub>反应</sub>：反应体系总体积，1.0mL；**

**W：样本质量，0.1g。**

**计算举例：**取土样 0.1g 实验，测定管上清液 2 倍稀释，测得测定管吸光度为 0.473，对照管和基质管为稀释，对照管吸光度为 0.043，基质管吸光度值为 0.022，按计算公式计算得：

根据标准曲线，得到  $Y_{\text{测定管}} = 1.08\text{mg/mL}$ ， $Y_{\text{对照管}} = 0.07\text{mg/mL}$ ， $Y_{\text{基质管}} = 0.05\text{mg/mL}$

$$S-SC(U/g \text{ 土样}) = (1.08 - 0.07 - 0.05) \times 1 \div 0.1 \div 1 = 9.60 (U/g)$$

## 六、注意事项：

- 1、比色时，溶液呈现橙色，在 1h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的蔗糖酶差异较大，先做预实验确认样本稀释倍数，一般条件下测定管需要 1-10 倍稀释，对照管和基质管无需稀释。
- 3、沸水浴时，应盖紧盖子，防止漏液。
- 4、标准曲线可用于参考，不同实验条件下，测定结果趋势不变，但数据值可能会存在一定的差异性。

- 5、因需要使用甲苯，故尽量在通风条件下进行；
- 6、若是称重的时候不能保证测定管和对照管重量固定，可将计算公式分解后带入计算。

## 附录 I：标准曲线的制备

### 1、前处理：

将 10mg/mL 的标准品用蒸馏水稀释成 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1mg/mL 标准液进行标准曲线的制备。

### 2、操作表：

标准品浓度 (mg/mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
不同浓度标准品 ( $\mu$ L)	100	100	100	100	100	100
试剂三 ( $\mu$ L)	300	300	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却						
蒸馏水 ( $\mu$ L)	1000	1000	1000	1000	1000	1000

混匀，波长 540 nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

### 3、测定结果：

标准品浓度 (mg/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0.0	0.036	0.000
0.2	0.176	0.140
0.4	0.367	0.331
0.6	0.565	0.529
0.8	0.760	0.724
1.0	0.933	0.897