

## 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
SMHA2-M48	土壤蔗糖酶 (S-SC) 试剂盒	48T	微量法
SMHA2-M96		96T	

### 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 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
甲苯	自备	自备	
试剂一	15mL×1 瓶	25mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂二应用液的配制：每瓶粉剂中加入 20mL 蒸馏水，充分溶解，4℃保存			
试剂三	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶	4℃保存
标准品粉剂	10mg×1 支	10mg×1 支	4℃保存
10mg/mL 标准品的配制：用时一支粉剂中加入 1mL 蒸馏水，混用，4℃保存			

### 四、操作步骤

#### 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。

#### 操作步骤

##### 1、培养反应：

	测定管	对照管	基质管
土样 (g)	0.05	0.05	-
甲苯 (μL)	25	25	25
震荡混匀, 使土样全部湿润, 室温静置 15min			
试剂一 (μL)	100	100	100
蒸馏水 (μL)	-	300	-
试剂二应用液 (μL)	300	-	300

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)	30	30	30	-
不同浓度的标准品 (μL)	-	-	-	30
试剂三 (μL)	90	90	90	90
混匀, 沸水浴 5min, 流水冷却				
蒸馏水 (μL)	300	300	300	300

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, 0.4mL;

**W:** 样本质量, 0.05g。

## 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、因需要使用甲苯, 故尽量在通风条件下进行;

## 七、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广, 品质可靠。

## 附录 I：蔗糖酶标准曲线的制备

### 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 (μL)	30	30	30	30	30	30
试剂三 (μL)	90	90	90	90	90	90
混匀，沸水浴 5min，流水冷却						
蒸馏水 (μL)	300	300	300	300	300	300

混匀，取 200μL 反应液于波长 540 nm，酶标仪测定各管吸光度值。

### 3、测定结果

标准品浓度 (mg/mL)	吸光度值	绝对吸光度值
0	0.0151	0.0000
0.2	0.0952	0.0801
0.4	0.1999	0.1848
0.6	0.2877	0.2726
0.8	0.3986	0.3835
1.0	0.5156	0.5005

