

土壤蔗糖中性转化酶(S-NI)试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SYHA1 -C24	土壤蔗糖中性转化酶(S-NI)试剂盒	24T	常量法
SYHA1 -C48		48T	

一、测定意义

中性转化酶活性是评估土壤健康状况的重要指标，酸性转化酶参与土壤中有机质的分解，促进碳、氮、磷等养分的释放和循环，对植物生长至关重要。土壤酸性转化酶的测定在土壤健康评估、养分循环、肥力评估、污染监测、土壤管理、生态恢复和科学研究中具有重要意义，有助于优化土壤管理和提高农业生产力。

二、测定原理

土壤蔗糖中性转化酶(S-NI)催化蔗糖水解生成还原糖（葡萄糖和果糖），还原糖与 3,5-二硝基水杨酸反应生成有色化合物，通过比色法测定其浓度，在 540nm 波长处测定吸光度值。

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：（标准品稀释详见附录）

	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，将各管吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y(mg/mL)

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

T：反应时间，1d；

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积,1.0mL；

W：样本质量，0.1g。

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：土壤蔗糖中性转化酶(S-NI)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 (μ L)	100	100	100	100	100	100
试剂三 (μ L)	300	300	300	300	300	300
混匀，沸水浴 5min，流水冷却						
蒸馏水 (μ 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。