

土壤蔗糖酶(S-SC)活性检测试剂盒

Soil Saccharase Assay Kit

分光光度法

货号: AK188

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK188-A	甲苯 5mL×1 瓶	(自备) 室温保存;
AK188-B	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK188-C	粉剂×2 瓶	4℃保存; 临用前取 1 瓶加入 15mL 蒸馏水充分溶解备用, 用不完的试剂 4℃可保存两周;
AK188-D	35mL×1 瓶	4℃保存;
AK188-标准品	粉剂×1 支	4℃保存;

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 土壤蔗糖酶 (Solid-Sucrase, 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相关, 是评价土壤肥力的重要指标。

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 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。

自备用品:

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、30-50 目筛、研钵、冰、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

样本处理:

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 研磨, 过 30-50 目筛。

测定步骤:

1. 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 540 nm, 蒸馏水调零。
2. 标准品准备: 临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解 (4℃可保存 2 周), 浓度为 10mg/ml, 然后再用蒸馏水稀释至 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0mg/mL。
3. 按下表依次加入下列试剂:

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)	标准管 (ul)
风干土样 (g)	0.1g	0.1g	
AK188-A	15	15	
振荡混匀, 使土样全部湿润, 37℃水浴 15min			
AK188-B	250	250	
AK188-C	750		
蒸馏水		750	
充分混匀, 放入 37℃水浴或恒温培养箱培养 24 小时, 10000 g, 4℃, 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	200	200	
标准品			200
AK188-D	500	500	500

充分混匀,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,最后于 540nm 处读吸光值 A,分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管;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),标准曲线只需测 1-2 次。

S-SC 活性计算:

1. 标准曲线的建立:以浓度 (x, mg/mL) 为横坐标,吸光度 A 标准 (y) 为纵坐标建立标准曲线;根据标准曲线,将 ΔA 带入公式中计算样本浓度 x (mg/mL)。

2. S-SC 活性计算:

单位的定义:在 37°C 条件下,每天每 g 土样中产生 1mg 还原糖定义为一个 S-SC 活力单位。

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

注: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