

土壤蔗糖酶(Solid-Sucrase, S-SC) 试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

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。

自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、甲苯(不允许快递)和蒸馏水。

试剂组成和配制:

试剂一: 甲苯 1mL×1 瓶, 4℃保存; (自备)

试剂二: 液体 7.5mL×1 瓶, 4℃保存;

试剂三: 粉剂×1 瓶, 4℃保存; 临用前每瓶加入 22mL 蒸馏水充分溶解备用; 用不完的试剂 4℃保存;

试剂四: 液体 22mL×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)	0.03	0.03
试剂一 (μL)	5	5

振荡混匀, 使土样全部湿润, 37℃水浴 15min

试剂二 (μL)	75	75
试剂三 (μL)	220	
蒸馏水 (μL)		220

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

上清液 (μL)	85	85
试剂四 (μL)	215	215

充分混匀, 95℃水浴 5min (盖紧, 以防止水分散失), 流水冷却, 蒸馏水稀释 10 倍 (可以吸取 100μL, 加入 900μL 蒸馏水稀释; 若吸光度大于 4, 可以加大稀释倍数), 取 200uL 至微量石英比色皿或 96 孔板中 510nm 处读吸光值 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：**a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下**

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) = $(\Delta A + 0.062) \div 4.9 \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 20.4 \times (\Delta A + 0.062)$

10：稀释倍数；T：反应时间，1d；V 反总：反应体系总体积：0.3mL；W：样本质量，0.03g。

b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为 $y = 2.45x - 0.062$ ；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) = $(\Delta A + 0.062) \div 2.45 \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 40.8 \times (\Delta A + 0.062)$

10：稀释倍数；T：反应时间，1d；V 反总：反应体系总体积：0.3mL；W：样品质量，0.03g。