

## 土壤蔗糖酶(S-SC) 活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

**注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。**

货号：AC10113

规格：50T/24S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 5 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存
试剂二	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 35 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

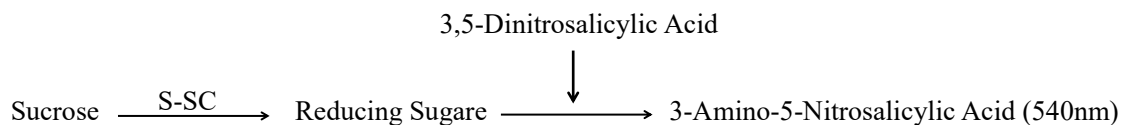
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯；
- 2、试剂三：临用前取 1 瓶加入 15 mL 蒸馏水充分溶解备用，用不完的试剂 2-8℃保存 2 周；
- 3、标准品：含 10 mg 无水葡萄糖（干燥失重<0.2%）。临用前加入 1 mL 蒸馏水溶解备用，2-8℃可保存 2 周，或者用饱和苯甲酸溶液溶解，可保存更长时间。

### 产品简介：

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。

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。



**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。**

### 需自备的仪器和用品：

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、冰、研钵、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

### 操作步骤：

## 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，研磨，过 30-50 目筛。

## 二、测定步骤

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2. 标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 mg/mL，可参考下表。

序号	稀释前浓度(mg/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (mg/mL)
1	10	100	900	1
2	1	250	250	0.5
3	1	200	300	0.4
4	1	150	350	0.3
5	1	100	400	0.2
6	1	50	450	0.1

备注：实验中每个标准管需 200μL 标准溶液。

3. 加样表：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.1	0.1	-	-
试剂一 (μL)	15	15	-	-
振荡混匀，使土样全部湿润，37°C水浴或恒温培养箱放置 15min				
试剂二 (μL)	250	250	-	-
试剂三 (μL)	750	-	-	-
蒸馏水 (μL)	-	750	-	-
混匀，放入 37°C水浴或恒温培养箱培养 24 小时，10000g，4°C，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 (μL)	200	200	-	-
标准液 (μL)	-	-	200	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	200
试剂四 (μL)	500	500	500	500

充分混匀，放入沸水浴中煮沸 5min（盖紧，缠封口膜以防止水分散失），流水冷却后充分混匀。

540nm 处蒸馏水调零，取全部反应液于 1mL 玻璃比色皿中，读取吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定管} - A_{对照管}$ （每个测定管需设一个对照管）， $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管}$ 。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

## 三、S-SC 活性计算

1、标准曲线的建立：

根据标准管的浓度 (x, mg/mL) 和吸光度  $\Delta A_{标准}$  (y,  $\Delta A_{标准}$ )，建立标准曲线。根据标准曲线，将  $\Delta A_{测定}$  (y,  $\Delta A_{测定}$ ) 带入公式计算样本浓度 (x, mg/mL)。

2、S-SC 活性计算：

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

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

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。

#### 相关发表文献:

[1] Hou Q, Wang W, Yang Y, et al. Rhizosphere microbial diversity and community dynamics during potato cultivation[J]. European Journal of Soil Biology, 2020, 98: 103176.

#### 参考文献:

[1] Gao M, Song W, Zhou Q, et al. Interactive effect of oxytetracycline and lead on soil enzymatic activity and microbial biomass[J]. Environmental toxicology and pharmacology, 2013, 36(2): 667-674.

#### 相关系列产品:

- AC10121/AC10122 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒
- AC10087/AC10088 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒
- AC10625/AC10626 土壤中性转化酶 (S-NI) 活性检测试剂盒
- AC10623/AC10624 土壤 $\beta$ -1,4-葡聚糖酶 (S-C1) 活性检测试剂盒
- AC10619/AC10620 土壤 $\beta$ -木糖苷酶 (S- $\beta$ -XYS) 活性检测试剂盒