

土壤蔗糖酶（S-SC）活性检测试剂盒说明书

微量法

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：BC0245

规格：100T/48S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	液体 7.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂×1 支	2-8℃保存

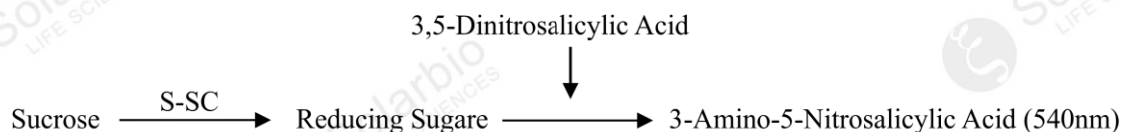
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯，大约需要 1mL，常温保存；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称；
- 2、试剂三：临用前取 1 瓶加入 11 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。

产品说明：

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。

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/酶标仪、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、30-50 目筛、冰、研钵、甲苯（>98%，AR）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

- 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，分光光度计蒸馏水调零。
- 标准品准备：将标准品用蒸馏水稀释至 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1mg/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	100	100	0.5
3	1	80	120	0.4
4	1	60	140	0.3
5	1	40	160	0.2
6	1	20	180	0.1

备注：下述实验中每个标准管需 85μL 标准溶液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

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)	0.03	0.03	-	-
试剂一 (μL)	5	5	-	-
振荡混匀，使土样全部湿润，37°C 水浴或恒温培养箱 15min				
试剂二 (μL)	75	75	-	-
试剂三 (μL)	220	-	-	-
蒸馏水 (μL)	-	220	-	-
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进行下述实验（可根据预实验结果用蒸馏水对上清液进行适当稀释使 ΔA 测定在 0.01-1.5 之间）				
上清液 (μL)	85	85	-	-
标准品 (μL)	-	-	85	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	85
试剂四 (μL)	215	215	215	215

充分混匀，放入沸水浴中煮沸 5min（缠封口膜，防止爆盖），流水冷却后充分混匀。

取 200μL 至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，测定吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管（每个测定管需设一个对照管），ΔA 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 ΔA 标准 (y, ΔA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定 (y, ΔA 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。

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

F：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。



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.
- [2] Fazal A, Yang M, Wang X, Lu Y, Yao W, Luo F, Han M, Song Y, Cai J, Yin T, Niu K, Sun S, Qi J, Lu G, Wen Z, Yang Y. Discrepancies in rhizobacterial assembly caused by glyphosate application and herbicide-tolerant soybean Co-expressing GAT and EPSPS. J Hazard Mater. 2023 May 15;450:131053. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.131053. Epub 2023 Feb 22. PMID: 36842198.
- [3] Fazal A, Wen Z, Yang M, Wang C, Hao C, Lai X, Jie W, Yang L, He Z, Yang H, Cai J, Qi J, Lu G, Niu K, Sun S, Yang Y. Triple-transgenic soybean in conjunction with glyphosate drive patterns in the rhizosphere microbial community assembly. Environ Pollut. 2023 Oct 15;335:122337. doi: 10.1016/j.envpol.2023.122337. Epub 2023 Aug 8. PMID: 37562532.
- [4] Yang M, Luo F, Song Y, Ma S, Ma Y, Fazal A, Yin T, Lu G, Sun S, Qi J, Wen Z, Li Y, Yang Y. The host niches of soybean rather than genetic modification or glyphosate application drive the assembly of root-associated microbial communities. Microb Biotechnol. 2022 Dec;15(12):2942-2957. doi: 10.1111/1751-7915.14164. Epub 2022 Nov 6. PMID: 36336802; PMCID: PMC9733649.
- [5] Yang L, Muhammad I, Chi YX, Wang D, Zhou XB. Straw Return and Nitrogen Fertilization to Maize Regulate Soil Properties, Microbial Community, and Enzyme Activities Under a Dual Cropping System. Front Microbiol. 2022 Mar 15;13:823963. doi: 10.3389/fmicb.2022.823963. PMID: 35369510; PMCID: PMC8965350.
- [6] Guo QQ, Xiao MR, Zhang GS. The persistent impacts of polyester microfibers on soil bio-physical properties following thermal treatment. J Hazard Mater. 2021 Oct 15;420:126671. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126671. Epub 2021 Jul 16. PMID: 34329074.

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.
- [2] Zhang F, Qiao Z, Yao C. et al. Effects of the novel HPPD-inhibitor herbicide QYM201 on enzyme activity and microorganisms, and its degradation in soil[J]. Ecotoxicology, 2021, 30(1): 80-90.

相关系列产品:

- BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒
- BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒
- BC4040/BC4045 土壤中性转化酶 (S-NI) 活性检测试剂盒
- BC4030/BC4035 土壤 β -1,4-葡聚糖酶 (S-C1) 活性检测试剂盒
- BC4010/BC4015 土壤 β -木糖苷酶 (S- β -XYS) 活性检测试剂盒

