

土壤中性转化酶（S-NI）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1346

产品规格：50管/24样

产品简介：

S-NI在中性条件下催化蔗糖不可逆地分解为果糖和葡萄糖，是土壤微生物蔗糖代谢关键酶之一。

S-NI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NI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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体100mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	液体30mL×1瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	4℃

溶液的配制：

1. 试剂二：临用前加入30mL试剂一充分溶解备用；用不完的试剂4℃保存。
2. 标准品：10mg无水葡萄糖。临用前加入1mL试剂一溶解，制备10mg/mL葡萄糖标准液备用。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵、蒸馏水、30-50目筛、甲苯。

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℃烘箱风干，过30~50目筛。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min，波长调至540nm，蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释：将10mg/mL葡萄糖标准液用试剂一稀释至0.3、0.2、0.1、0.08、0.06、0.04mg/mL的葡萄糖标准溶液备用。
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（ μ L）	-	800	-	800
试剂二（ μ L）	800	-	-	-
标准液（ μ L）	-	-	800	-
甲苯（ μ L）	20	20	20	20

混匀，37℃准确水浴1h后，煮沸10min左右（盖紧，以防止水分散失），流水或冰浴冷却后充分混匀（以保证浓度不变），10000rpm，常温离心10min，取上清。

上清液（ μ L）	700	700	700	700
---------------	-----	-----	-----	-----



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂三 (μL)	300	300	300	300
----------	-----	-----	-----	-----

混匀，煮沸 10min 左右（盖紧，以防止水分流失），流水冷却后充分混匀，540nm 处蒸馏水调零，记录各管吸光值 A，记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

三、S-NI 活性计算

1. 标准曲线的绘制：

以葡萄糖浓度为 x 轴，相应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ；将 ΔA 带入公式得到 x (mg/mL)。

2. S-NI 活性计算

单位定义：37℃ 每 g 土壤每天产生 1mg 还原糖定义为一个酶活性单位。

$$S-NI (U/g \text{ 土样}) = x \times V \div W \div T = 19.2 \times x \div W$$

V：加入的标准液体积，0.8mL；W：样本质量，g；T：反应时间：1/24d。

注意事项：

1. 如果加入试剂三，煮沸 10min 后有混浊物出现，建议离心除去沉淀（10000rpm，2min），取上清测定吸光度；
2. 如果吸光值大于 1，可以用试剂一将上清液稀释后测定（计算公式中乘以相应稀释倍数）；若吸光值较小，可以增加上清液体积或者土样质量进行测定。

实验实例：

1. 取两管 0.1g 林土，测定管加入试剂二 800μL、甲苯 20μL，对照管加入试剂一 800μL、甲苯 20μL，37℃ 准确水浴 1h 后，煮沸 10min，离心取上清稀释 5 倍，之后按照测定步骤操作，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.191 - 0.074 = 0.117$ ，标准曲线： $y = 5.1864x - 0.1698$ ， $x = 0.055$ ，计算酶活得：
 $S-NI (U/g \text{ 土样}) = 19.2 \times x \div W \times 5 (\text{稀释倍数}) = 19.2 \times 0.055 \div 0.1 \times 5 (\text{稀释倍数}) = 52.8 U/g \text{ 土样}$ 。
2. 取两管 0.1g 土样，测定管加入试剂二 800μL、甲苯 20μL，对照管加入试剂一 800μL、甲苯 20μL，37℃ 准确水浴 1h 后，煮沸 10min，离心取上清稀释 5 倍，之后按照测定步骤操作，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.161 - 0.086 = 0.075$ ，标准曲线： $y = 5.1864x - 0.1698$ ， $x = 0.047$ ，计算酶活得：
 $S-NI (U/g \text{ 土样}) = 19.2 \times x \div W \times 5 (\text{稀释倍数}) = 19.2 \times 0.047 \div 0.1 \times 5 (\text{稀释倍数}) = 45.12 U/g \text{ 土样}$ 。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com