

土壤中性转化酶（S-NI）测试盒（微量法）

产品货号：BA1347

产品规格：100管/48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40mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	液体10mL×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10mL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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、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/酶标仪预热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0.4、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）	0.02	0.02	-	-
试剂一（ μ L）	-	160	-	160
试剂二（ μ L）	160	-	-	-
标准液（ μ L）	-	-	160	-

甲苯（ μ L）	4	4	4	4
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				



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

匀（以保证浓度不变），10000rpm，常温离心10min，取上清。				
上清液（ μL ）	140	140	140	140
试剂三（ μL ）	60	60	60	60

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 ΔA 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。

$$\text{S-NI (U/g 土样)} = x \times V \div W \div T = 3.84 \times x \div W$$

V：加入的标准液体积，0.16mL；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 1.3，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 0.02g 林土，测定管加入试剂二 160 μL 、甲苯 4 μL ，对照管加入试剂一 160 μL 、甲苯 4 μL ，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，用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.127 - 0.074 = 0.053$ ，带入标准曲线 $y = 3.6555x - 0.1459$ ，计算 $x = 0.05441$ ，计算酶活得：
 $\text{S-NI (U/g 土样)} = 3.84 \times x \div W \times 5$ （稀释倍数） $= 3.84 \times 0.05441 \div 0.02 \times 5$ （稀释倍数） $= 52.2336 \text{U/g 土样}$ 。
2. 取两管 0.02g 土样，测定管加入试剂二 160 μL 、甲苯 4 μL ，对照管加入试剂一 160 μL 、甲苯 4 μL ，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，用 96 孔板测得计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}} = 0.115 - 0.068 = 0.047$ ，带入标准曲线 $y = 3.6555x - 0.1459$ ，计算 $x = 0.05277$ ，计算酶活得：
 $\text{S-NI (U/g 土样)} = 3.84 \times x \div W \times 5$ （稀释倍数） $= 3.84 \times 0.05277 \div 0.02 \times 5$ （稀释倍数） $= 50.6592 \text{U/g 土样}$ 。



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