

## 土壤中性转化酶（Soil-Neutral invertase, S-NI）试剂盒说明书

### 分光光度法 50 管/24 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：

蔗糖转化酶（Invertase, Ivr）催化蔗糖不可逆地分解为果糖和葡萄糖，是高等植物蔗糖代谢关键酶之一。根据最适 pH，将 Ivr 分为酸性转化酶（AI）和中性转化酶（NI）两种类型。S-NI 主要存在于细胞质中，负责分解细胞质中蔗糖为果糖和葡萄糖。

#### 测定原理：

S-NI 催化蔗糖分解产生还原糖，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 光吸收值与还原糖生成量成正比。通过光吸收增加速率来计算 NI 活性

#### 自备用品：

可见分光光度计、台式离心机、水浴锅、移液器、1mL 玻璃比色皿和蒸馏水。

#### 试剂组成和配制：

试剂一：液体 50mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃ 保存；临用前加入 25mL 试剂一充分溶解备用；用不完的试剂 4℃ 保存；

试剂三：液体 20mL×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 (μL)	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.1	0.1
试剂一		800
试剂二	800	

混匀，37℃ 准确水浴 30min，95℃ 水浴 10min 左右（盖紧，以防水分散失），流水冷却，充分混匀（以保证浓度不变），10000g 25℃ 离心 10min，取上清液

上清液	700	700
试剂三	350	350

混匀，95℃ 水浴 10min（盖紧，以防止水分散失），流水冷却后充分混匀，510nm 处，蒸馏水调零，记录各管吸光值 A，如果吸光值大于 2，可以用蒸馏水稀释后测定（计算公式中乘以相应稀释倍数）， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

#### S-NI 活性计算：

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.0016x - 0.001$ ；x 为标准品浓度 (μg/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-NI 活力单位。

S-NI 活力 (μg/d /g 土样) =  $[(\Delta A + 0.001) \div 0.0016 \times V \text{ 反总} \div W \div T \div 1000 = 240 \times (\Delta A + 0.001)$

V 反总：反应体系总体积：0.8mL；T：反应时间，1/48d；W：样本质量，0.1g；1000：1mg=1000μg。