

土壤轉化酶活性的測定方法

苏业瑜 徐声桓

(南京农学院)

許多研究者^[1,2,3,4,5,6]的工作指出,土壤酶的活性与土壤肥力存在着一定的关系。例如, Маштаков、Кулаковская^[7]等的研究指出,土壤轉化酶的活性与燕麦的产量有直接关系,酶活性越高,燕麦的产量也越高; Александрова^[8]也认为,土壤中的轉化酶活性与产量有間接的关系。因此,測定土壤中的各种酶类的活性,可能有助于我們进一步的以动态的观点去認識土壤的养分与植物之間的供求关系。

在土壤轉化酶活性測定时,由于某些土壤中含有大量的有机氮肥、腐殖質以及其它色素,常使待測液混浊,并带有顏色,因而常用的旋光或比色等光学方法均不适用。我們用 H. Tryller^[13]的方法,并用同調指示电子管仪代替一般的检流計来进行測定,得到了較滿意的結果。

一、測定方法

(一) 試剂的配制

(1) 索氏碱性銅試剂(Soxhlet Reagent)^[16]

索氏試剂 A: 称取 34.63 克含有結晶水的硫酸銅($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)冲稀至 500 毫升。

索氏試剂 B: 溶解 173 克酒石酸鉀鈉与 50 克 NaOH 于蒸餾水中,最后稀釋至 1,000 毫升。

使用之前,等量的混合。

(2) 硫酸鈉溶液: 称取 Na_2SO_4 39.415 克,溶于少量蒸餾水中,最后稀釋至 1,000 毫升。

(3) pH 4.5 磷酸緩冲溶液的 5% 蔗糖溶液。

(二) 同調指示电子管仪的裝置^[9-14] 同調指示电子管仪的裝置綫路如图 1。其中真空管 V_5 是 6E5, 是該仪器的主要部分,用来指示电位滴定的終点。其原理是:当阴极电子冲击在螢光屏上即发綠色螢光,其強弱可受柵极的調节;柵极是由电极传递来的信号經 V_6 (6SL 7-GT) 放大而传入,由于 6E5 需在直流及穩压情况下工作,所以交流电需經 V_2 (5Y3-GT) 整流及 V_3 (VR-150GT)、 V_4 (VR-90) 穩压后才能供給 6E5 所需的工作电源, R_8 与 R_{11} 是可变电阻,調节与平衡同調指示管仪,工作开始时,需将两电极 [A] 及 [B] 短路,調节 R_8 与 R_{11} 至电表关闭后,再将两电极接通被測液中的两个銅电极待測。

(三) 电极的准备 按 H. Tryller^[15,16] 設計的电极裝置。在內管中加入索氏試剂 B、硫酸鈉溶液及蒸餾水(比例为 1:1:4)的混合液,浸漬 2—3 小时,在实验前插入电极。另外环绕在內管外围插入一根純銅絲做的阴极,即可待測。在每次实验后,俟电极冷却,用稀硝酸溶液除去电极表面上所沉积的氧化亚銅沉淀。

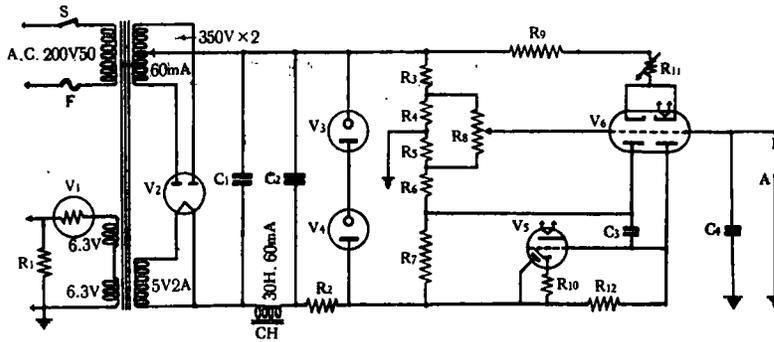


图 1 同調指示电子管仪裝置綫路

V ₁	3D-1(NEC)	C ₄	0.01μF	R ₅	100Ω
V ₂	5Y3-GT	C. H.	30H. 60mA	R ₆	6KΩ
V ₃	VR150-GT	S	开关	R ₇	12KΩ
V ₄	VR90	F	保險絲	R ₈	5KΩ可变
V ₅	6E5	R ₁	21Ω	R ₉	100KΩ
V ₆	6SL 7-GT	R ₂	2.5KΩ	R ₁₀	1MΩ
C ₁ , C ₂	20μF(电解質)	R ₃	6KΩ	R ₁₁	100KΩ可变
C ₃	0.1μF	R ₄	100Ω	R ₁₂	500KΩ

(四) 样品的处理^[1,3] 称取 10 克土壤,加入甲苯 1 毫升,然后加入 pH 4.5 磷酸缓冲液配制的 5%蔗糖溶液 50 毫升,加塞保温于 35℃ 24 小时(或 48 小时)后,加入 0.2N NaOH 溶液 10 毫升,固定酶的作用,过滤,将滤液装入滴定管待测。

(五) 滴定步骤 取索氏试剂 A 及 B 各 5 毫升于一烧杯中,混合后,由滴定管中先加入 10 毫升待测液,放入电极,连接已调节好零点的同调指示管仪,当待测液与试剂在煮沸的情况下,由滴定管渐渐放入待测液,每加 1 毫升煮沸 10 秒钟左右,至电眼闭合时即为滴定的终点。若同调指示管仪与电极联通后,电眼不张开,是电极接反,或者是待测液浓度太高,需稀释后再测定。若待测液用去的毫升数超过 50 毫升,需要改变电极中混合液的配制比例(索氏试剂 B、硫酸钠、蒸馏水比为 1:1:8)。当待测液用去的毫升数为 15—50 毫升时,其结果最为满意。

(六) 结果的计算^[17] 用不同浓度的标准糖溶液来滴定 10 毫升索氏碱性铜试剂,绘制标准曲线,然后再查出待测液的浓度。

另外亦可用 Lane, Eynon^[18]的换算系数直接计算出糖的浓度。其计算公式:

$$\frac{\text{换算系数}}{\text{滴定数值}} \times 100 = \text{每 100 毫升中所含糖的毫克数}$$

二、结果与讨论

曾取菜园地中青菜根系附近的土壤,阴干后,分别加入不同的无机盐 (NH₄)₂SO₄, Na₂HPO₄, K₂SO₄, 混匀,放置两天。然后再按上法测定土壤转化酶的活性,结果列于表 1 中。

表 1 中样品 1 和样品 2,系同一块菜园地上两个不同取样点的样品。由表 1 的结果中看出,用含氮的无机盐以及配合使用磷、钾处理土壤时,土壤中转化酶的活性都有所增加。

表1 N、P、K 对土壤转化酶活性的影响(还原糖,毫克/克土)

处 理		原 土 (平均值)	原土+N (平均值)	原土+N+P (平均值)	原土+N+K (平均值)
样 品 1	根系左侧的土壤样品	53.1	104.6	114.7	86.0
	根系右侧的土壤样品	54.6	109.0	117.9	81.8
样 品 2	根系左侧的土壤样品	55.4	89.2	89.2	100.6
	根系右侧的土壤样品	56.6	88.6	88.3	101.0

种植不同作物的土壤中,表土层和亚表土层转化酶活性的测定结果(表2)表明,虽然同一块田中不同取样点转化酶的活性可以有相当大的差异,但现种植小麦或洋葱的土壤,每一取样点表土层中,酶的活性恒比亚表土层中者高。现种植山芋的土壤,上下土层中酶的活性没有差异,看来是由于该块田曾被深耕过的缘故。

表2 不同土层中转化酶的活性(还原糖,毫克/克土)

土 样		土层深度(厘米)	0—20*	20—30*
小麦根系土壤***	样品1**		72.4	54.18
	样品2		87.42	52.38
	样品3		57.30	52.95
山芋块根附近的土壤***	样品1		53.85	53.64
	样品2		55.85	55.83
	样品3		55.89	47.79
洋葱块根附近的土壤	样品1		82.20	45.59
	样品2		68.21	37.20
	样品3		52.53	33.84

*混合样品。 **同一块田中不同取样点的样品。 ***保温48小时。

应用 Tryller 法测定有色溶液及混浊溶液中转化糖的含量,操作简便,终点明确,但是仍存在一定的缺点。首先由于土壤中含有其他还原性物质,能使索氏试剂还原,因而测定结果可能偏高;其次是我們所制备的电极,其下部的石膏易崩裂,每一电极仅能测定10次左右,还有待进一步的改进。

参 考 文 献

- [1] Купревеч В. Ф.: 1951. ДАН. СССР. 79, № 5, 863.
- [2] Купревеч В. Ф.: 1953. По Вопросам почв Микробиологин, 124.
- [3] Купревеч В. Ф.: 1958. Вест. АН. СССР. № 4, 52.
- [4] Hofmann E. Z.: 1955. Pfla. Düng Boden, 69: 15 (引自中文文摘).
- [5] Дробник Я.: 1957. Почвоведение, № 12, 62.
- [6] 张尧武、郑鸿元: 1962. 土壤学报, 10卷1期。
- [7] Маштаков С. М. Кулаковская Т. Н. и Гольлина С. М.: 1954. ДАН. СССР, 98, 1.
- [8] Александрова И. В.: 1959. Почвоведение, № 9, 73.
- [9] Coalstad S. E.: 1948. Inter. Sugar J., 48:296.
- [10] Bell, E. V. Graham, J. C. J.: 1950. Inter. Sugar J., 52, 90.
- [11] Cameron, E. B. G.: 1950. Proc. Queensland Soc. Sugar. Canc. Technol, 17, 217.

- [12] 松尾义之、松井治三郎: 1952。发酵工学, 30, 326。
[13] 松尾义之、松井治三郎: 1953。发酵工学, 31, 298。
[14] 松尾义之、森英子: 1954。发酵工学, 32, 76。
[15] Tryller H.: 1932. Intern. Sugar J., 34, 53.
[16] Browne, C. A., Zerban, F. W.: Physical and Chemical Method of Sugar Analysis.: 1955. 3th ed., New York, John Wiley & Sons inc.
[17] Kenny, R. L., Fill, M. A.: 1939. Analyst Vol. 64, No. 758, 420.
[18] Lane, Eynon, G. H.: 1923. J. Soc. Chem. Ind., 42, 32T. *ibid.*, 1925, 44. 150T.

DETERMINATION OF THE ACTIVITY OF SOIL INVERTASE BY POTENTIOMETRIC TITRATION METHOD

SU YEH-YIH AND HSU SHENG-HUAN

(*Nanking Agricultural College*)

(SUMMARY)

Invertase activity of the soil is generally estimated from the concentration of the invert sugar through hydrolysis of sucrose by the invertase. Owing to the presence of soil organic matter, the coloration of soil solution usually introduces interference in polariscopic, colorimetric, and ordinary titration methods. Present investigation suggests the adoption of Tryller's potentiometric titration method provided with a magic eye for determining invertase activity.

Determinations were made on agricultural soils grown wheat, sweet potatoes and onion. Results showed that activity of invertase varies with the kinds of chemical fertilizers applied and also with the depth of soils.