

# 土壤几丁质酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHC2-C24	土壤几丁质酶(S-Chitinase)试剂盒	24T	常量法
SMHC2-C48		48T	

## 一、测定意义：

几丁质在自然界广泛分布，是土壤中昆虫和真菌细胞壁的主要结构组分，是土壤中有有机碳和氮的重要过渡库。几丁质酶是几丁质分解代谢不可缺少的酶，测定几丁质酶的活性能反映含氮有机物在土壤中的转化动态。

## 二、测定原理：

以几丁质为底物，土壤几丁质酶水解底物生成 N-乙酰氨基葡萄糖，N-乙酰氨基葡萄糖与碱共热产生的中间化合物可进一步与对二甲基氨基苯甲醛反应生成显色物质，该物质在 585nm 处有特征吸收峰，测定其吸光值变化来计算几丁质酶的活性。

## 三、试剂盒组成：

试剂名称	试剂装量（24T）	试剂装量（48T）	保存条件
甲苯	自备	自备	室温
试剂一	18mL×1 瓶	36mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	18mL×1 瓶	36mL×1 瓶	-20℃ 保存
试剂三	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂四 A	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存
试剂四 B	60mL×1 瓶	100mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂四配制：临用前每瓶试剂四 A 粉剂中加入 50mL 试剂四 B，充分溶解。			
标准品（5mg）	粉剂×1 支	粉剂×2 支	2-8℃ 保存
50μg/mL 标准溶液配制：临用前一支粉剂加入 1mL 试剂二，充分溶解，即为 5mg/mL 标准溶液。将 5mg/mL 标准溶液用蒸馏水 100 倍稀释，即为 50μg/mL 标准溶液。			

## 四、操作步骤：

### 一、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干，过 30-50 目筛。

### 二、操作步骤

#### 1、培养反应：

	测定管	对照管
土样（g）	0.1	0.1
甲苯（μL）	50	50
震荡混匀，使土样全部湿润，室温静置 15min		
试剂一（μL）	300	300

蒸馏水 (μL)	-	600
试剂二 (μL)	600	-
混匀, 37°C 孵育 24h		

混匀, 10000 转/min 常温离心 10min, 取上清液备用。

## 2、显色反应:

	测定管	对照管	空白管	标准管
上清液 (μL)	250	250	-	-
蒸馏水 (μL)	-	-	250	-
50μg/mL 标准品 (μL)	-	-	-	250
试剂三 (μL)	50	50	50	50
混匀, 沸水浴 5min, 流水冷却至室温				
试剂四 (μL)	750	750	750	750
混匀, 37°C 孵育 20min, 蒸馏水调零, 于 1mL 玻璃比色皿中测定 585nm 处各管吸光值。				

计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ,  $\Delta A_{\text{标准管}} = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ 。

注: 每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管;

## 五、单位定义与计算:

**单位定义:** 37°C 条件下, 每克土壤每天分解几丁质产生 1μg N-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活性单位。

### 计算公式:

土壤几丁质酶活性 (U/g 土样) =  $(\Delta A \div \Delta A_{\text{标准管}} \times C_{\text{标}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 45 \times \Delta A \div \Delta A_{\text{标准}} \div W$

**C 标:** 标准管的浓度, 50μg/mL;

**V 反总:** 样本处理总体积, 0.9mL;

**W:** 样本质量, g;

**T:** 反应时间, 1d。

## 六、注意事项:

- 1、显色随着时间的延长会逐步下降, 应立即比色。
- 2、不同土壤样本的几丁质酶差异较大, 根据样本活性可以适当增加或者减少称取样本重量。
- 3、甲苯易挥发, 操作时候宜在通风橱中进行。
- 4、试剂四有一定的毒性, 实验操作时做好个人防护。