

Soil chitinase Activity Assay Kit

土壤几丁质酶试剂盒说明书

货号: G0335F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

多种微生物、动物、植物等都可产生几丁质酶, 土壤中几丁质酶主要水解几丁质多聚体产生 N-乙酰氨基葡萄糖, 该产物进一步与铁氰化钾反应, 于 420nm 处检测, 进而计算得到土壤几丁质酶活性大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 18mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加 1.5mL 盐酸充分混匀溶解后, 再加 1.7mL 蒸馏水混匀备用。
试剂三	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加 1.2mL 蒸馏水溶解备用, 可-20℃分装冻存, 尽量避免反复冻融。
试剂四	液体 19mL×1 支	4℃保存	
试剂五	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
试剂六	粉体 g×1 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 再加 30mL 蒸馏水溶解备用。
标准品	粉剂×1 支	4℃保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、天平、水浴锅、低温离心机、盐酸、蒸馏水。

四、土壤几丁质酶活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

取新鲜土样或 37℃烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛网备用。

2、上机检测:

① 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 420nm, 蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.1g	0.1g
试剂一	300	400
试剂二	100	
混匀, 37℃ (恒温培养箱) 孵育 3h, 4000rpm 离心 5min, 取上清。		

③ 在 EP 管中依次加入:

上清液	200	200
-----	-----	-----

试剂三	10	10
试剂四	370	370
混匀，37℃孵育 1h。		
试剂五	120	120
混匀，4000rpm 离心 5min，取上清液待测。		

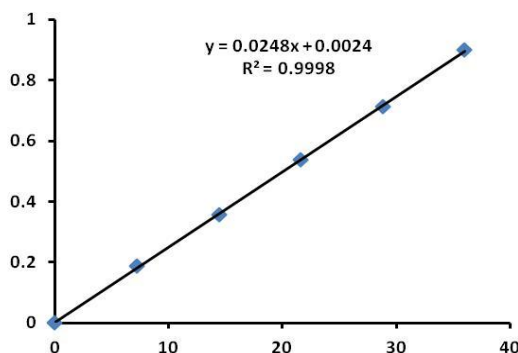
④ 在 EP 管中依次加入：

上清液	360	360
试剂六	480	480
混匀，95-100℃煮沸 10min，若有沉淀，于 12000rpm 室温离心 5min，取全部上清液至 1mL 玻璃比色皿中于 420nm 处读取各管吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ （每个样本做一个自身对照）。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0248x + 0.0024$ ，X 是标准品质量（ μg ），y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按照样本重量计算：

酶活定义：每克土壤每小时分解几丁质产生 $1\mu\text{gN}$ -乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤几丁质酶活性}(\mu\text{g/h/g 土壤}) &= [(\Delta A - 0.0024) \div 0.0248 \times 3.89] \div W \div T \\ &= 52.3 \times (\Delta A - 0.0024) \div W \end{aligned}$$

T---反应时间，3h；

3.89---体积系数；

W---样本质量，g；

标准品分子量---221.21；