



## 土壤几丁质酶活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

**注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。**

货号：BC1930

规格：50T/24S

**产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 3mL×1 瓶（自备）	常温保存
试剂二	液体 15mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 18mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四	液体 4mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂五 A	粉剂×2 瓶	2-8°C保存
试剂五 B	液体 55mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C保存

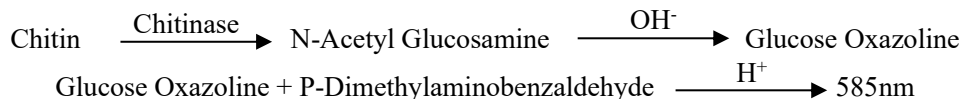
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯。
- 2、试剂三：悬浊液，使用前摇匀。
- 3、试剂四为饱和溶液，低温（2-8°C）取出可能会有晶体析出，加热使其溶解即可。
- 4、试剂五：临用前取 1 瓶加入 25mL 试剂五 B，充分溶解，现配现用。用不完的试剂 2-8°C可以保存 4 周。
- 5、标准液：5mg N-乙酰氨基葡萄糖。临用前加入 1mL 试剂二配制成 5mg/mL 的标准溶液，即 5000µg/mL 的标准溶液，2-8°C可以保存 4 周。

### 产品说明：

几丁质来源非常丰富，是自然界中仅次于纤维素的第二大类生物高聚物，由于其分解非常缓慢而大量堆积容易造成环境严重污染。几丁质酶是影响土壤中氮矿化的一种重要的酶，其分解几丁质控制着氮循环的关键步骤。

几丁质酶水解几丁质产生 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氨基苯甲醛反应产生显色物质，该显色物质在 585nm 处有特征吸收峰，吸光值增加速率反映了几丁质酶的活性。



**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。**

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、可调式移液器、旋涡振荡混匀仪、1mL 玻璃比色皿、研钵、30-50 目筛、甲苯（不允许快递）、蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

### 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）

新鲜土样风干，过 30-50 目筛。称取约 0.15g 土样，加入 0.075mL 试剂一，混匀，常温静置 15min。静置结束后，加入 0.3mL 试剂二与 0.6mL 试剂三，37°C 振荡反应 24h，8000rpm，4°C 离心 10min（若离心后上清中仍有杂质，建议将上清再次离心，至澄清），取上清液待测。

### 二、测定步骤

- 1、可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 585nm，蒸馏水调零。
- 2、标准品溶液的配制：临用前将 5000 $\mu$ g/mL 的标准溶液用试剂二稀释 125 倍得 40 $\mu$ g/mL 标准溶液备用。取 16 $\mu$ L 5000 $\mu$ g/mL 的标准溶液，加 1984 $\mu$ L 试剂二，充分混匀，配制成 40 $\mu$ g/mL 标准液使用，现用现配。（实验中每管需要 250 $\mu$ L，为减小实验误差，故配制大体积。）
- 3、在 EP 管中进行以下操作：

试剂名称	对照管	测定管	空白管	标准管
上清液（ $\mu$ L）	250	250	-	-
试剂二（ $\mu$ L）	-	-	250	-
标准液（ $\mu$ L）	-	-	-	250
试剂四（ $\mu$ L）	50	50	50	50
	混匀，常温静置 5min		混匀，沸水浴 5min，流水冷却至常温	
试剂五（ $\mu$ L）	750	750	750	750

涡旋混匀，37°C 水浴锅/恒温培养箱准确反应 20min，于 1mL 玻璃比色皿中测定 585nm 处吸光值，分别记为 A 对照、A 测定、A 空白、A 标准。计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照， $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白。标准管和空白管只需测 1-2 次。

### 三、土壤几丁质酶活性计算

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

土壤几丁质酶活性 (U/g 土样) = ( $\Delta A$  测定  $\div$   $\Delta A$  标准  $\times$  C 标)  $\times$  V 反总  $\div$  W  $\div$  T = 39  $\times$   $\Delta A$  测定  $\div$   $\Delta A$  标准  $\div$  W

C 标：标准管的浓度，40 $\mu$ g/mL；V 反总：样本处理总体积，0.975mL；W：样本质量，g；T：反应时间，1d。

### 注意事项：

1. 反应结束后立即进行比色。
2. 试剂五有一定的毒性，实验操作时做好个人防护。
3. 当 A 测定大于 1 时，建议将样本上清液用试剂二稀释后再进行测定。

### 实验实例：

1. 取 0.15g 土样 1 按照测定步骤操作，使用 1mL 玻璃比色皿测得计算  $\Delta A$  测定=A 测定-A 对照=0.099-0.010=0.089， $\Delta A$  标准=A 标准-A 空白=0.705-0.009=0.696。根据公式计算酶活得：  
土壤几丁质酶活性 (U/g 土样) = 39  $\times$   $\Delta A$  测定  $\div$   $\Delta A$  标准  $\div$  W = 39  $\times$  0.089  $\div$  0.696  $\div$  0.15 = 33.2 U/g 土样。

### 相关系列产品：

- BC0150/BC0155 土壤纤维素酶 (S-CL) 活性检测试剂盒
- BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒
- BC3100/BC3105 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒