土壤几丁质酶活性检测试剂盒说明书

规格：24 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。
2. 正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测。
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 试剂一使用前需充分混匀。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	甲苯	避光	自备
试剂二	3 mL×1	4℃	
试剂三	1.5 mL×1	4℃	
试剂四	32 mL×1	4℃避光	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅、甲苯。

四、样品制备

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 60 目筛备用。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 544 nm 处。

2.在 1.5 mL 离心管中依次加入：

	测定管	对照管
样本（g）	0.1	0.1
试剂一（甲苯）（μL）	15	15
混匀，室温静置 15 min。		
试剂二（μL）	100	-
蒸馏水/超纯水（μL）	-	100
充分混匀，37℃培养 24 h。		

蒸馏水/超纯水（μL）	200	200
4000 g，4℃，离心 30 min，上清待测，在新的 1.5 mL 离心管中依次加入下列上清及试剂。		
上清（μL）	200	200
试剂三（μL）	20	20
充分混匀，沸水浴 5 min		
试剂四（μL）	600	600
充分混匀，37℃显色 20 min，取 200 μL 于 96 孔板中，测定 544 nm 处吸光值，记为 A 测定和 A 对照，ΔA=A 测定-A 对照。每一个测定管需设置一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准曲线：y=2.6357x-0.0007，R^2=0.9989；x 为标准品浓度（μg/mL），y 为吸光值ΔA。

单位定义：37℃条件下，每克土壤每天分解几丁质产生 1 μg 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（μg/d/g 样）=（ΔA+0.0007）÷2.6357×V 反总÷W÷T×1000 = 119.5×（ΔA+0.0007）÷W

V 反总：反应体系总体积，0.315 mL；W：样本质量，0.1 g；T：反应时间，1 d；1000：1 mg/mL=1000 μg/mL

七、产品简介

土壤几丁质酶是靶向真菌、线虫残体分解的特征指示酶，检测活性可判断：①土壤真菌群落周转水平；②土壤天然抗真菌、抗线虫病害潜力；③氨基糖缓释有机氮矿化能力；④污染/连作导致的土壤微生态功能退化；⑤甲壳素有机肥、生防菌剂改良土壤的实际效果，是土传病害、根际微生物、土壤氮碳循环研究的关键酶指标。