

Soil aryl amidase activity assay Kit

土壤芳基酰胺酶活性测定试剂盒说明书

货号: G0344W | 方法: 微板法 | 规格: 48 样

一、产品简介:

土壤芳基酰胺酶 (Aryl-acylamidase, EC 3.5.1.13) 可水解带有酰胺基团的化合物; 本试剂盒利用土壤芳基酰胺酶水解底物 L-亮氨酸 β -萘胺生成 β -萘胺, β -萘胺接着与对二甲氨基肉桂醛生成红色偶氮化合物, 该化合物于 540nm 处有特征吸收峰, 通过检测该红色物质的增加速率, 即可计算土壤芳基酰胺酶活性大小。

二、试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 30mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
试剂二	粉剂 mg \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 12.5mL 蒸馏水, 充分溶解备用,
试剂三	液体 8mL \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	
试剂四	粉剂 mg \times 1 瓶	4 $^{\circ}$ C 保存	临用前甩几下使试剂落入底部, 再加入 10mL 乙醇, 充分溶解备用。
标准品	粉剂 mg \times 1 支	4 $^{\circ}$ C 保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、离心机、恒温水浴锅、乙醇、可调式移液器。

四、土壤芳基酰胺酶活性测定:

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

1、样本制备:

取新鲜土样风干或者 30 $^{\circ}$ C 烘箱风干, 先粗研磨, 过 40 目筛备用。

【注】: 土壤风干, 减少土壤中水分对于实验的干扰; 土壤过筛, 保证取样的均匀细腻;

2、上机检测:

① 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μ L)	测定管	对照管
样本	0.1g 土壤	0.1g 土壤
试剂一	300	300
试剂二	100	
混匀, 于 37 $^{\circ}$ C 孵育 2h (间隔 30min 振荡混匀一次)		
95%乙醇	600	600
试剂二		100
立即混匀, 于 12000rpm, 室温或 4 $^{\circ}$ C 离心 10min, 离心 10min, 上清液待测。		

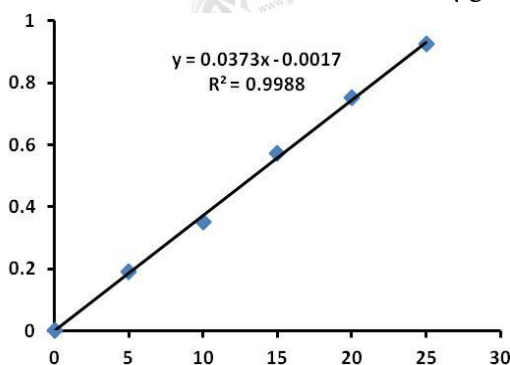
③ 显色反应，在 96 孔板中依次加入：

上清液	80	80
试剂三	80	80
试剂四	80	80
混匀，10min 后，于 540nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （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： $y = 0.0373x - 0.0017$ ，x 是标准品浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ），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、酶活定义：37°C 条件下，每克土样每小时释放出 $1\mu\text{g}$ 的 β -萘胺为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤芳基酰胺酶活性}(\mu\text{g/h/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0017) \div 0.0373 \times V_1 \div W \div T \\ &= 13.4 \times (\Delta A + 0.0017) \div W \end{aligned}$$

V_1 ---孵育阶段的反应总体积，1mL；

T---反应时间，2h；

W---样本质量，g；