

土壤芳基酰胺酶（S-AAH）测试盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|------------|------------------------|------|------|
| SMHB10-M48 | 土壤芳基酰胺酶 (S-AAH) 试剂盒 | 48T | 微量法 |
| SMHB10-M96 | | 96T | |

一、测定意义：

土壤芳基酰胺酶催化多肽、酰胺或芳基酰胺水解释放 N 末端氨基酸，可能与 N 的矿化有关。

二、测定原理：

土壤芳基酰胺酶催化 L-亮氨酸β-萘胺水解产生β-萘胺，β-萘胺进一步与对二甲氨基肉桂醛反应生成红色偶氮化合物，在 540nm 处检测吸光值，测定其吸光值的变化计算样本中的酶活性。

三、试剂盒组成：

| 试剂名称 | 试剂装量 (48T) | 试剂装量 (96T) | 保存条件 |
|-------------------|------------|------------|--------|
| 试剂一 | 15mL×1 瓶 | 30mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 5mL×1 瓶 | 10mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂三(95%乙醇) | 自备 | 自备 | 2-8℃保存 |
| 试剂四 | 10mL×1 瓶 | 20mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂五 | 10mL×1 瓶 | 20mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 标准品 (100μg/ml) | 1mL×1 瓶 | 1mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |

四、操作步骤：

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。

操作步骤

1、培养反应（在 1.5mL 离心管中加入以下试剂）：

| | 测定管 | 对照管 |
|-------------|------|------|
| 土样 (g) | 0.05 | 0.05 |
| 试剂一 (μL) | 300 | 300 |
| 试剂二 (μL) | 100 | - |
| 混匀，37℃孵育 1h | | |
| 试剂三 (μL) | 300 | 300 |

| | | |
|----------|---|-----|
| 试剂二 (μL) | - | 100 |
|----------|---|-----|

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

2、显色反应（在 96 孔板中加入以下试剂）：

| | 测定管 | 对照管 | 标准管 |
|----------|-----|-----|-----|
| 上清液 (μL) | 40 | 40 | - |
| 标准品 (μL) | - | - | 40 |
| 乙醇 | 40 | 40 | 40 |
| 试剂四 (μL) | 80 | 80 | 80 |
| 试剂五 (μL) | 80 | 80 | 80 |

混匀，静置 10min，波长 540nm，酶标仪测定各管吸光度值。

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：每时每克风干土壤中产生 1μg β-萘胺 为一个酶活力单位。

计算公式：根据标准曲线，将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (μg/mL)

$$S-AAS(U/g \text{ 土样}) = (Y_{\text{测定}} - Y_{\text{对照}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

T：反应时间，1h；V_{反应}：反应总体积，0.7mL；W：样本质量，0.05g。

六、注意事项：

- 1、不同土壤样本的芳基酰胺酶差异较大，先做预实验确认样本活力。
- 2、标准曲线可用于参考，不同实验条件下，测定结果趋势不变，但数据值可能会存在一定的差异性。
- 3、因需要使用乙醇，故尽量在通风条件下进行；
- 4、若是称重的时候不能保证测定管和对照管重量固定，可将计算公式分解后带入计算。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理：

将 100μg/ml 的β-萘胺标准液用蒸馏水稀释成 0、2、4、6、8、10、

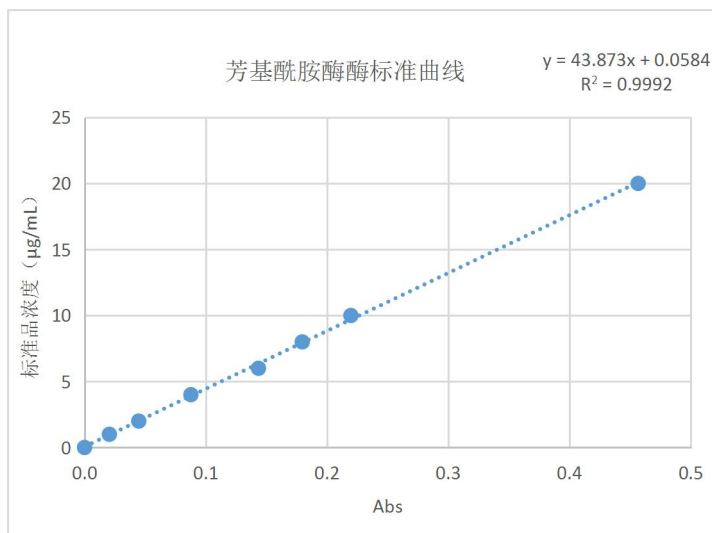
20μg/mL β-萘胺标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表：

| 标准液浓度 (μg/mL) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 20 |
|-----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|
| 标准液 (μL) | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 95%乙醇 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 | 40 |
| 试剂四 (μL) | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |
| 试剂五 (μL) | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 | 80 |
| 混匀，静置 10min，波长 540nm，酶标仪测定各管吸光度值。 | | | | | | | |

3、测定结果：

| β-萘胺标准浓度 (μg/mL) | 测定 OD |
|---------------------|--------|
| 0 | 0.0134 |
| 2 | 0.0705 |
| 4 | 0.133 |
| 6 | 0.1916 |
| 8 | 0.2399 |
| 10 | 0.3092 |
| 20 | 0.5991 |



【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日