

土壤羟胺还原酶（S-HR）活性检测试剂盒说明书

货号：RX850W48 规格：100 管/48 样 方法：酶标仪法

一、注意事项

- 1.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。
- 2.本试剂盒仅用于科研。
- 3.土壤表层溶解氧浓度较大，取样应取表层 5-10 cm 的土壤，否则酶活性较低或者测定不到。推荐取样深度 10 cm。
- 4.试剂三尽量不要敞口放置，取完立即加盖拧紧，若长时间敞口可沸水浴加热后冷却使用。
- 5.反应体系最好能用氮吹仪排除溶解氧，若无此装置，则加入试剂三后立即密封，于 30°C 反应 1h。
- 6.空白管只做 2~3 管。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	2.2 mL×1	4°C	
试剂二	粉剂×1	4°C	临用前加 4.5 mL 超纯水/蒸馏水充分溶解。
试剂三	13 mL ×1	4°C	不宜长期敞口放置
试剂四	8.8 mL ×1	4°C	
试剂五	4.5 mL ×1	4°C	
试剂六	2.2 mL ×1	4°C避光	
试剂七	2.2 mL ×1	4°C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、水浴锅/恒温培养箱。

四、样品制备

新鲜土样自然风干或 37°C 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 510 nm 处。
- 2.在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

试剂名称	测定管	对照管	空白管
土壤 (g)	0.02	0.02	-
试剂一 (μL)	40	-	40
蒸馏水 (μL)	-	40	-
试剂二 (μL)	40	40	40
试剂三 (μL)	120	120	120
加完缓冲液后立即盖上盖子或使用氮吹仪排掉氧气后立即盖上盖子。混匀后 30℃ 培养箱或水浴锅中反应一小时。反应结束后加入下列试剂:			
试剂四 (μL)	80	80	80
充分震荡 10min, 10000g, 常温离心 10min。			
上清液 (μL)	20	20	20
试剂五 (μL)	40	40	40
试剂六 (μL)	20	20	20
试剂七 (μL)	20	20	20
超纯水/蒸馏水 (μL)	140	140	140
注意: 加完试剂六后, 混合均匀, 再加入下一试剂。加完所有溶液后混匀, 吸取 200 μL 加入 96 孔板中, 在 510 nm 下测定吸光值 A, 分别记 A 测定管、A 对照管、A 空白管。计算 $\Delta A = A_{\text{空白管}} - (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}})$ 。(每个测定管需设置一个对照管, 但空白管只做 2-3 个算平均值。)			

六、计算

1. 标准方程

标准条件下测得回归方程为 $y = 0.1004x - 0.0006$, $R^2 = 0.9998$, x 为标准品浓度 ($\mu\text{mol/L}$), y 为吸光值。

2. 单位定义

每克土壤每天转化 $1\mu\text{mol}$ 羟胺为一个酶活力单位 U。

土壤羟胺还原酶 (HR) 活性 ($\mu\text{mol/d/g}$ 土样) = $(\Delta A + 0.0006) \div 0.1004 \times V$ 反
总 $\div W \div T = 66.93 \times (\Delta A + 0.0006) \div W$

V 反总: 反应总体积, 0.28mL; W: 样本质量, g; T: 1/24 d

七、产品简介

土壤羟胺还原酶是氮代谢过程中的关键酶之一，能催化土壤中氮代谢过程中形成的中间产物羟胺还原为氨。土壤中的还原态化合物可作为氢的供体，其强弱影响到土壤氮代谢过程中氮素的氨挥发损失，间接影响氮肥的利用效率。