

土壤羟胺还原酶（HR）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1843

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/96T

产品简介

土壤羟胺还原酶能将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。本试剂盒提供了一种简单的比色法来检测土壤羟胺还原酶（HR）。其原理是硫酸铁铵中的 Fe^{3+} 可将羟胺氧化为氮气，自身被还原为 Fe^{2+} ， Fe^{2+} 在弱酸条件下与邻菲罗琳形成橙红色配合物，在 510nm 处有吸收峰，羟胺还原酶作用于羟胺，使配合物形成量减少，510nm 处吸光值的减少可反映羟胺还原酶的活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	2mL	4mL	4℃ 保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃ 保存
试剂三	6mL	12mL	4℃ 保存
试剂四	4mL	8mL	4℃ 保存
试剂五	2mL	4mL	4℃ 保存
试剂六	1mL	2mL	4℃ 避光保存
试剂七	1mL	2mL	4℃ 避光保存
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃ 保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 510nm 处的吸光值）、烘箱、水浴锅
 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
 台式离心机、漩涡震荡仪、氮吹仪、30-50 目筛
 去离子水

试剂准备

试剂一：即用型；使用前平衡到室温；-20℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前平衡到室温；-20℃ 保存。

试剂三：即用型；使用前平衡到室温；实验过程中避光放置；避光 4℃ 保存。

试剂四：即用型；使用前平衡到室温；实验过程中避光放置；避光 4℃ 保存。

标准曲线设置：取 10 μL NaNO_2 标准品（1M）用 990 μL 提取液稀释至 10mM NaNO_2 。取 10 μL 10mM 的 NaNO_2 用 990 μL 提取液稀释至 100 μM NaNO_2 。用 100 μM NaNO_2 按下表所示，进行下一步稀释：

	100 μM NaNO ₂ (μL)	提取液 (μL)	浓度 (μM)
Std. 1	200	0	100
Std. 2	100	100	50
Std. 3	40	160	20
Std. 4	20	180	10
Std. 5	10	190	5
Std. 6	4	196	2
Std. 7	2	198	1

注意：标准品现配现用；稀释后的标准溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 510nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.06	0.06		
标准液 (μL)			60	
蒸馏水 (μL)		225		285
试剂一 (μL)	225		225	
试剂二 (μL)	75	75	75	75

混匀后，盖盖后 37℃ 水浴 24h，8000g 25℃ 离心 10min，取上清液到新的 EP 管中

上清液 (μL)	130	130	130	130
试剂三 (μL)	85	85	85	85
试剂四 (μL)	85	85	85	85

混匀，25℃ 水浴显色 20min，4000g 25℃ 离心 10min，取 200 μL 于 96 孔板或微量玻璃比色皿，测定 510nm 处的吸光值。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，标准曲线和空白只需要测一次。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果样本吸光值大于 1.2，样本可用提取液进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将样本的 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入方程得到 y 值（ $1 \mu\text{M} = 1 \mu\text{mol/L} = 1 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$ ）。

2. S-NR 活性计算：

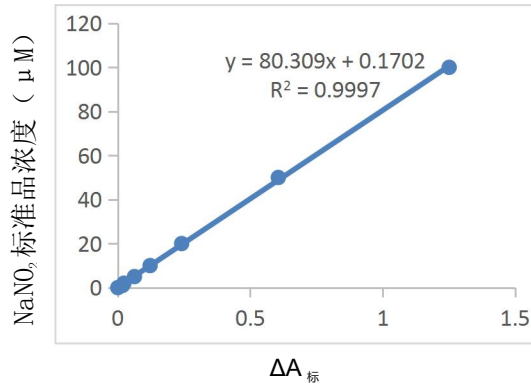
单位的定义：每天每 g 土样中产生 $1 \mu\text{mol NO}_2^-$ 的量为一个 S-NR 活力单位。

$S\text{-NR (U/g 土样)} = y \times 10^{-3} \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.005y$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.3mL；T：反应时间，24h，1d；W：样本质量，0.06g。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1833 土壤亚硝酸还原酶(S-NiR) 测试盒（微量法）
- PMK1843 土壤羟胺还原酶(HR) 测试盒（微量法）
- PMK1824 土壤过氧化氢酶(S-CAT) 测试盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

