

土壤羟胺还原酶（S-HR）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1843

保存：4℃避光保存 12 个月

规格：48T/24S 96T/48S

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×2 瓶	4℃保存
试剂三	8mL	16mL	4℃保存
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃保存
试剂五	3mL	6mL	4℃保存
试剂六	2mL	4mL	4℃避光保存
试剂七	2mL	4mL	4℃避光保存
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 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、恒温箱

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；4℃保存。

试剂二：临用前每瓶加入 2.5mL 去离子水充分溶解备用；用不完的试剂 4℃保存 2 周或分装-20℃保存。

试剂三：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。避免敞口放置，取完应立即拧紧，若已经长期敞口放置，可以沸水浴 10min（密封以防止水分散失），冷却至室温后再继续使用。

试剂四：临用前每瓶加入 5mL 去离子水充分溶解，取上清备用。用不完的试剂 4℃避光保存 2 周或分装-20℃保存。

试剂五：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。

试剂六：即用型；使用前平衡到室温；4℃避光保存。

试剂七：即用型；使用前平衡到室温；4℃避光保存。

标准品：临用前每瓶加 1.028mL 去离子水充分溶解，制备 140 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 盐酸羟胺标准溶液待用，4℃保存 2 周。

产品说明书

标准曲线设置：按下表所示，用去离子水将 140 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准溶液稀释为 20、10、5、2.5、1.25、0.625、0.313 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 的标准溶液。

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	标准品浓度 ($\mu\text{mol}/\text{mL}$)
标准品 1	30 μL of 140 $\mu\text{mol}/\text{mL}$	180	20
标准品 2	100 μL of 标准品 1	100	10
标准品 3	100 μL of 标准品 2	100	5
标准品 4	100 μL of 标准品 3	100	2.5
标准品 5	100 μL of 标准品 4	100	1.25
标准品 6	100 μL of 标准品 5	100	0.625
标准品 7	100 μL of 标准品 6	100	0.313

注意：每次实验，请使用新配制的标准品。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30-50 目筛。

注意：土壤表层溶解氧浓度较大，取样应取表层 5cm 以下的土壤。

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	无基质管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.02	0.02	-	-	-
标准液 (μL)	0	0	0	40	0
去离子水 (μL)	0	40	0	0	40
试剂一 (μL)	40	0	40	0	0
试剂二 (μL)	40	40	40	40	40
试剂三 (μL)	120	120	120	120	120

混匀后，用 N₂ 气流排除管中空气，立即密封，于 30 $^{\circ}\text{C}$ 反应 1h

试剂四 (μL)	80	80	80	80	80
-----------------------	----	----	----	----	----

充分震荡 10min, 8000rpm, 25 $^{\circ}\text{C}$, 离心 10min, 取上清液于 96 孔板或微量玻璃比色皿

上清液 (μL)	20	20	20	20	20
试剂五 (μL)	40	40	40	40	40
试剂六 (μL)	20	20	20	20	20
试剂七 (μL)	20	20	20	20	20
去离子水 (μL)	100	100	100	100	100

产品说明书

混匀，25℃显色10min，测定510nm处的吸光值。计算 $\Delta A_{测} = (A_{无基质} - A_{空白}) - (A_{测定} - A_{对照})$ ， $\Delta A_{标} = A_{标准} - A_{空白}$ 。每个测定管需设一个对照，标准曲线、空白和无基质管只需要测一次。

注意：1. 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 $\Delta A_{测}$ 小于0.005可适当加大样本量。如果样本吸光值大于1.5，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。
2. 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℃反应1h。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为y轴， $\Delta A_{标}$ 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 $\Delta A_{测}$ 代入方程得到y值（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。

3. 土壤羟胺还原酶（S-HR）活性计算：

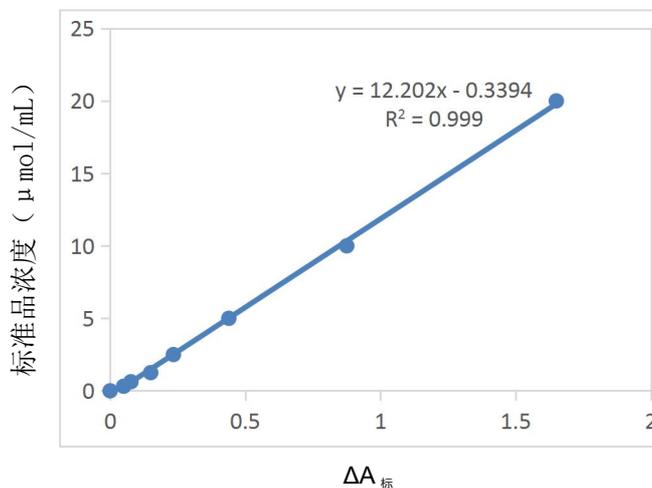
单位的定义：每天每g土样转化 $1\mu\text{mol}$ 羟胺的量为一个酶活力单位。

S-HR活性（U/g土样）= $y \times V_{反应} \div W \div T = 4.8y \div W$

$V_{反应}$ ：反应体系总体积，0.2mL；T：反应时间，1h，1/24d；W：样本质量，g。

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：

PMK1819 土壤脲酶（S-UE）检测试剂盒（微量法）

PMK1825 土壤硝酸还原酶（S-NR）检测试剂盒（微量法）

PMK1833 土壤亚硝酸还原酶（S-NiR）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：

