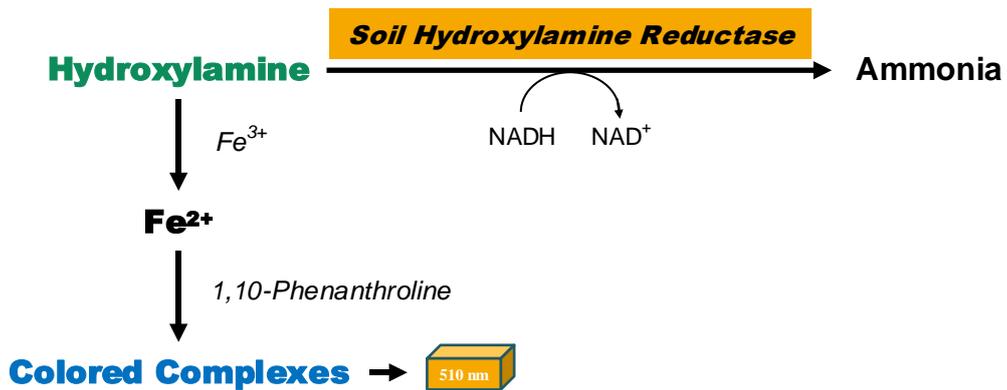




土壤羟胺还原酶 (S-HR) 活性检测试剂盒  
Soil Hydroxylamine Reductase (S-HR) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司  
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



## 土壤羟胺还原酶 (S-HR) 活性检测试剂盒

### Soil Hydroxylamine Reductase (S-HR) Activity Assay Kit

#### 一、产品描述

土壤羟胺还原酶 (S-HR) 能将土壤氮代谢过程中形成的中间产物羟胺还原为氨，土壤中还原态化合物可作为氨的供体，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。

硫酸铁铵中的  $\text{Fe}^{3+}$  可将羟胺氧化为氮气，自身被还原为  $\text{Fe}^{2+}$ ， $\text{Fe}^{2+}$  在弱酸条件下能够与邻菲罗啉形成橙红色配合物，产物在 510 nm 处具有特征吸收峰，羟胺还原酶可催化羟胺分解，使配合物形成量减少，通过 510 nm 处吸光值减少即可表征羟胺还原酶的活性。

#### 二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C 保存	使用前每瓶加入 2.5 mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 15 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	粉剂×1 瓶	4°C 保存	使用前加入 10 mL 蒸馏水充分溶解
试剂五	液体 5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂六	液体 2.5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂七	液体 2.5 mL×1 瓶	4°C 保存	-
标准品	粉剂×1 支	4°C 保存	使用前加入 1.028 mL 蒸馏水充分溶解 (即为 140 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 盐酸羟胺标准液)
标准稀释液的制备：将 140 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 盐酸羟胺标准液使用蒸馏水稀释至 4.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 即为标准稀释液。			

#### 三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、可调式移液器、台式离心机、30-50 目筛、氮吹仪、37°C 烘箱、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

##### 1. 土壤样本的预处理

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干，过 30-50 目筛。

## 2.测定步骤

①分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm，蒸馏水调零。

②在离心管中依次加入下列试剂（可根据预实验结果适当调整样本量）：

试剂	测定管 ( $\mu\text{L}$ )	无基质管 ( $\mu\text{L}$ )	无土样管 ( $\mu\text{L}$ )	标准管 ( $\mu\text{L}$ )	空白管 ( $\mu\text{L}$ )
风干土样 (mg)	20	20	-	-	-
试剂一	40	-	40	-	-
标准稀释液	-	-	-	40	-
蒸馏水	-	40	-	-	40
试剂二	40	40	40	40	40
试剂三	120	120	120	120	120
充分混匀，氮气 ( $\text{N}_2$ ) 流排除管内空气，立即密封后 $30^\circ\text{C}$ 准确反应 1 h					
试剂四	80	80	80	80	80
充分震荡混匀 10 min，8000 rpm 常温离心 10 min，取上清液					
在微量玻璃比色皿或 96 孔板中加入下列试剂					
上清液	20	20	20	20	20
试剂五	40	40	40	40	40
试剂六	20	20	20	20	20
试剂七	20	20	20	20	20
蒸馏水	100	100	100	100	100
充分混匀， $25^\circ\text{C}$ 静置显色 10 min					

**吸光值测定：**测定 510 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 无基质、A 无土样、A 标准和 A 空白；计算  $\Delta A_{\text{测定}} = (A_{\text{无土样}} - A_{\text{空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{无基质}})$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：每个测定管均需要设一个无基质管，无土样管和空白管只要做 1-2 次。

**标准曲线的建立：**以 4.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125  $\mu\text{mol/mL}$  为横坐标 (x)，对应的  $\Delta A_{\text{标准}}$  标准为纵坐标 (y) 绘制标准曲线，得到线性回归方程  $y = kx + b$ ，将  $\Delta A_{\text{测定}}$  带入公式中计算 x ( $\mu\text{mol/mL}$ )。

### 3.土壤羟胺还原酶 (S-HR) 活性计算

单位定义：每天每 g 风干土样催化 1  $\mu\text{mol}$  羟胺转化定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-HR (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{S1}}}{W \times T} = \frac{0.96 \times x}{W}$$

注释： $V_{\text{S1}}$ ：反应体系中加入试剂一的体积，0.04 mL； $W$ ：风干土样质量，g； $T$ ：反应时间，1 h = 1/24 d。

#### 四、注意事项

- ①土壤表层溶解氧浓度较大，取样应取表层 5 cm 以下土壤，否则酶活性较低或无法测定；
- ②试剂三避免敞口放置，取完应立即密封，若长期敞口放置，可以沸水浴 10 min（密封以防止水分散失），冷却至室温后再继续使用；
- ③若  $\Delta A$  测定大于 0.5，建议将反应体系中离心上清液适当稀释后再进行测定，计算时相应修改；
- ④反应过程中建议使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，30°C 反应 1 h；
- ⑤为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

**For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.**

**boxbio**

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.  
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

