



## 土壤羟胺还原酶活性检测试剂盒

### S-HR Assay Kit

微量法

产品编号: AK454M  
产品规格: 100T/48S  
产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK454-A	5mL×1 瓶	4℃保存;
AK454-B	粉剂×2 瓶	4℃保存; 临用前取1瓶加2.5mL蒸馏水溶解, 剩余试剂4℃可保存1周;
AK454-C	15mL×1 瓶	4℃保存;
AK454-D	10mL×1 瓶	4℃保存;
AK454-E	5mL×1 瓶	4℃保存;
AK454-F	2.5mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK454-G	2.5mL×1 瓶	4℃避光保存;
AK454-标准品	粉剂×1 支	临用前加 1.028mL 蒸馏水充分溶解, 制备 140μmol/mL 盐酸羟胺标准溶液待用, 4℃保存保存 2 周

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

#### 简介:

**意义:** 土壤羟胺还原酶 (hydroxylamine reductase, HR) 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。

**原理:** 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。

#### 自备用品:

可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、天平、常温离心机、震荡仪、氮吹仪、30-50 筛和蒸馏水。

#### 样本处理

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干, 过 30~50 目筛。

#### 测定步骤:

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 510nm, 蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释: 将 140μmol/mL 标准液用蒸馏水稀释至 4.375、2.1875、1.094、0.547、0.2735、0.13675μmol/mL 的标准液备用。
3. 样本测定 (在 EP 管中依次加入下列试剂):

	无基质管	对照管	测定管	标准管	空白管
风干土样 (g)		0.02	0.02		
AK454-A (μL)	40		40		
蒸馏水 (μL)		40			40
标准溶液				40	
AK454-B (μL)	40	40	40	40	40
AK454-C (μL)	120	120	120	120	120
混匀后, 用 $N_2$ 气流排除管中空气, 立即密封, 于 30℃ 反应 1h					
AK454-D (μL)	80	80	80	80	80

充分震荡 10min, 8000rpm, 25°C, 离心 10min					
上清液 (μL)	20	20	20	20	20
AK454-E (μL)	40	40	40	40	40
AK454-F (μL)	20	20	20	20	20
AK454-G (μL)	20	20	20	20	20
蒸馏水 (μL)	100	100	100	100	100

充分混匀, 置于 25°C 水浴锅, 显色 10min, 于微量玻璃比色皿/96 孔板中测定 510nm 处吸光值, 记为 A 对照管、A 测定管、A 无基质管、A 标准管和 A 空白管。计算  $\Delta A$  测定 = (A 无基质管 - A 空白管) - (A 测定管 - A 对照管),  $\Delta A$  标准 = A 标准管 - A 空白管。

注: 每个测定管设一个对照管, 标准曲线、无基质管和空白管只需做 1-2 次。

#### 计算公式:

##### 1. 标准曲线的绘制:

根据标准管的浓度 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/L}$ ) 和吸光度  $\Delta A$  标准 ( $y$ ,  $\Delta A$  标准), 建立标准曲线。根据标准曲线, 将  $\Delta A$  测定 ( $y$ ,  $\Delta A$  测定) 带入公式计算样本浓度 ( $x$ ,  $\mu\text{mol/L}$ )。

##### 2. 酶活计算:

酶活定义: 每 g 土壤每天转化  $1\mu\text{mol}$  羟胺为 1 个酶活力单位。

$S\text{-HR 活性}(U/g \text{ 土样}) = x \times V \div W \div T = 0.96 x \div W$

注:  $V$ : 加入试剂 A 体积,  $0.04\text{mL}$ ;  $W$ : 样本质量,  $g$ ;  $T$ : 反应时间  $1/24\text{h}$ 。

#### 注意事项:

1. 土壤表层溶解氧浓度较大, 取样应取表层 5cm 以下的土壤, 否则酶活性较低或者测定不到。
2. AK454-C 尽量不要敞口放置, 取完立即加盖拧紧。
3. 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 C 后立即密封, 于  $30^\circ\text{C}$  反应 1h。