

土壤羟胺还原酶（S-HR）测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHC7-M48	土壤羟胺还原酶(S-HR)检测试剂盒	48T	微量法
SMHC7-M96		96T	

一、测定意义：

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。

二、测定原理：

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啉形成橙红色配合物，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。

三、试剂盒组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
试剂一	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	粉剂×2 瓶	粉剂×4 瓶	2-8℃ 保存
试剂二的配制：每瓶粉剂中加入 2.5mL 蒸馏水溶解备用，2-8℃ 保存一周。			
试剂三	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三的制备：临用前沸水浴中加热 15min，开盖 10s 后立即拧紧盖子，待自然冷却后再使用。			
试剂四	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存
试剂四的制备：临用前取一瓶加 10mL 蒸馏水溶解，此溶液为饱和溶液，取上清使用即可。			
试剂五	液体 5mL×1 瓶	液体 10mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂六	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂七	液体 2.5mL×1 瓶	液体 5mL×1 瓶	2-8℃ 保存
标准品	粉剂×1 支	粉剂×1 支	2-8℃ 保存
标准品的配制：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，2-8℃ 保存 2 周。			

四、操作步骤：

样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干，过 30-50 目筛。

操作步骤

- 酶标仪预热 30min，波长调至 510nm，蒸馏水调零。
- 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。
- 操作表（将试剂依次加入离心管中）：

试剂名称	对照管	测定管	基质管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.02	0.02	-	-	-
试剂一 (μL)	-	40	40	-	-
标准溶液 (μL)	-	-	-	40	-
蒸馏水 (μL)	40	-	-	-	40
试剂二 (μL)	40	40	40	40	40
试剂三 (μL)	120	120	120	120	120
混匀后，用氮气 (N ₂) 流排除管中空气，立即密封，置于 30℃ 水浴锅反应 1h					
试剂四 (μL)	80	80	80	80	80
充分震荡 10min，8000rpm，25℃，离心 10min					
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
蒸馏水 (μL)	100	100	100	100	100
充分混匀，置于 25℃ 水浴锅，显色 10min，于 96 孔板中测定 510nm 处吸光值，记为 A _{对照} 、A _{测定} 、A _{基质} 、A _{标准} 和 A _{空白} 。计算 $\Delta A_{\text{测定}} = (A_{\text{基质}} - A_{\text{空白}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照管（标准曲线、无基质管和空白管只需做 1-2 次）					

五、单位定义与计算：

- 标准曲线的绘制：根据标准管的浓度 (y, μmol/mL) 和吸光度 $\Delta A_{\text{标准}}$ (x, $\Delta A_{\text{标准}}$)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ (x, $\Delta A_{\text{测定}}$) 带入公式计算样本浓度 (y, μmol/mL)。
- 单位定义：每克土壤每天转化 1μmol 羟胺为 1 个酶活力单位。

计算公式： $S-HR(U/g \text{ 土样}) = x \times V_{\text{试剂}} \div W \div T = 0.96x \div W$

$V_{\text{试剂}}$ ：加入试剂一体积，0.04mL；W：土样质量，g；T：反应时间，1/24h。

六、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、当 ΔA 大于 0.5 时，建议将样本上清液稀释后再进行测定。
- 3、反应体系最好能用氮吹仪排除溶解氧，若无此装置，则加入试剂三后立即密封，于 30℃反应 1h。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日