

土壤氨单加氧酶测试盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHC9-C48	土壤氨单加氧酶(S-AMO)试剂盒	48T	常量法

一、测定意义：

硝化过程是生物脱氮的关键步骤，也是自然界中氮素循环的一个重要环节。氨氮向亚硝酸盐的转化是生物脱氮的关键，控制着硝化作用的整个过程。氨单加氧酶在将氨氧化成羟胺的过程中起着重要作用。

二、测定原理：

土壤氨单加氧酶可以将铵态氮转成呈羟胺，铵态氮与次氯酸盐和苯酚作用，生成水溶性染料靛酚蓝，通过测定铵态氮前后含量的变化来表示土壤氨单加氧酶活性。

三、试剂盒组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	保存条件
试剂一	50mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存
试剂二配制：每支粉剂加入双蒸水 6mL，混匀，使其重复溶解		
试剂三	1.5mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三应用液配制：将试剂三(mL)：双蒸水(mL)=1:9 比例配制，用多少配多少。		
试剂四	15mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂五 A 液	4mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂五 B 液	4mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂五应用液的配制：把 A 液:B 液:蒸馏水按 1:1:3 的比例混合，现用现配		
试剂六	0.5mL×2 支	2-8℃ 保存
试剂六应用液的配制：临用前每支加入 5mL 蒸馏水，混匀， 2-8℃ 保存		
标准溶液（1mg/ml）	1.5mL×1 支	2-8℃ 保存

四、操作步骤：

一、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。

二、操作步骤

1、培养反应：

	测定管	对照管	基质管
--	-----	-----	-----

土样 (g)	0.1	0.1	-
试剂一 (μL)	800	800	800
试剂二 (μL)	100	100	100
试剂三 (μL)	100	-	100
蒸馏水 (μL)	-	100	-
37°C准确反应 1 h			
试剂四 (μL)	100	100	100

混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。

2、显色反应：

	测定管	对照管	标准管	基质管
上清液 (μL)	200	200	-	200
不同浓度的氮标准液 (μL)	-	-	200	-
试剂五应用液 (μL)	80	80	80	80
试剂六应用液 (μL)	60	60	60	60
混匀，室温静置 20min				
蒸馏水 (μL)	700	700	700	700
混匀，波长 630nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。				

五、单位定义与计算：

单位定义：每小时每克土壤中催化 1μmol 底物的量为一个酶活力单位

计算公式：根据标准曲线，将各管吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y(μmol/mL)

$$S-AMO(U/g \text{ 土样}) = (Y_{\text{无土基质管}} - Y_{\text{测定管}} + Y_{\text{对照管}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

T：反应时间，1h；

V：反应体系总体积，1.1mL；

W：样本质量，0.1g。

六、注意事项：

1、试剂二是现用现配，用不完的试剂-20°C保存一周；

2、蒸馏水要求无氨。

3、不同土壤样本的氨单加氧酶差异较大，先做预实验确认样本活力。可以适当改变样本取样量或者反应时间，计

算公式相应改变即可。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理

将 1mg/mL 的标准溶液用蒸馏水稀释成 0、1、2、4、6、8、10 μ g/mL 标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表

氮标准液浓度 (μ g/mL)	0	1	2	4	6	8	10
不同浓度标准液 (μ L)	200	200	200	200	200	200	200
试剂五应用液 (μ L)	80	80	80	80	80	80	80
试剂六应用液 (μ L)	60	60	60	60	60	60	60
混匀，室温静置 20min							
蒸馏水 (μ L)	700	700	700	700	700	700	700

混匀，波长 630 nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

3、测定结果

标准浓度 (μ g/mL)	测定 OD
0	0.011
1	0.067
2	0.121
4	0.229
6	0.354
8	0.453
10	0.604

