

## Soil-Nitrate Reductase (S-NR) Activity Assay Kit

## 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 试剂盒说明书

货号: G0309F | 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

## 一、产品简介:

土壤硝酸还原酶可以把土壤中的硝酸盐转变为亚硝酸盐,然后再通过亚硝酸还原酶的作用转变成氮循环的重要原料-铵,从而调节氮代谢,并影响到光合碳代谢,进而影响植物生长。

本试剂盒提供一种快速、精确的测定方法,土壤硝酸还原酶催化硝酸盐还原为亚硝酸盐;同时抑制亚硝酸还原酶对产生的亚硝酸盐的降解,亚硝酸盐与对应的显色剂反应生成(粉)红色偶氮化合物;该物质在 540nm 有最大吸收峰,进而得出土壤硝酸还原酶的活性。

## 二、试剂盒组分与配制:

| 试剂名称 | 规格           | 保存要求 | 备注                                                                 |
|------|--------------|------|--------------------------------------------------------------------|
| 试剂一  | 液体 15mL×1 瓶  | 4℃保存 |                                                                    |
| 试剂二  | 液体 3mL×1 瓶   | 4℃保存 |                                                                    |
| 试剂三  | 液体 30mL×1 瓶  | 4℃保存 |                                                                    |
| 试剂四  | 液体 14mL×1 瓶  | 4℃保存 |                                                                    |
| 试剂五  | A 液 12mL×1 瓶 | 4℃保存 | 临用前,可依据待检测样本数量,把 A 液和 B 液等比例混合成无色的反应 mix (注意观察,若变粉色,则不能使用)。两天之内用完。 |
|      | B 液 12mL×1 瓶 |      |                                                                    |
| 标准品  | 粉体 mg×1 支    | 4℃保存 | 若重新做标曲,则用到该试剂                                                      |

## 三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、水浴锅、台式离心机、可调式移液器。

## 四、土壤硝酸还原酶 (S-NR) 的测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

## 1、样本制备

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干,先粗研磨,过 40 目筛网,备用。

【注】:土壤风干,减少土壤中水分对于实验的干扰;土壤过筛,保证取样的均匀细腻;

## 2、测定步骤

① 可见分光光度计预热 30min 以上,调节波长至 540nm,蒸馏水调零。

② 在 EP 管中依次加入:

| 试剂名称 (μL) | 测定管                    | 对照管                                |
|-----------|------------------------|------------------------------------|
| 风干土样 (g)  | 0.25                   | 0.25                               |
| 试剂一       | 200                    | 200                                |
| 试剂二       | 50                     | 50                                 |
| 蒸馏水       | 250                    | 250                                |
|           | 混匀,且务必用封口膜封口。25℃培养 24h | 混匀,且务必用封口膜封口。20℃培养 24h (可放在-20℃冰箱) |

|                              |     |     |
|------------------------------|-----|-----|
| 试剂三                          | 500 | 500 |
| 混匀，12000rpm，4℃离心 10min，上清液待用 |     |     |

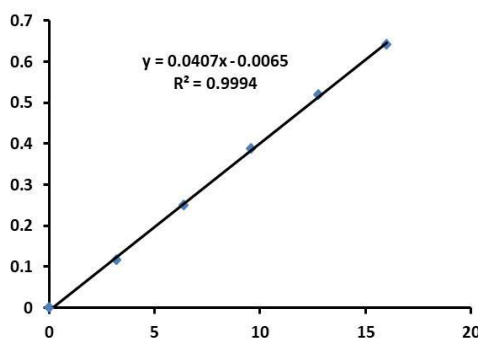
③ 显色反应，在 EP 管中依次加入：

|                                                                                                                              |     |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 上清液                                                                                                                          | 160 | 160 |
| 试剂四                                                                                                                          | 240 | 240 |
| 反应 mix                                                                                                                       | 400 | 400 |
| 混匀，25℃反应 5min（准确时间），全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，立即于 540nm 处读取 A 值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本做一个自身对照管）。 |     |     |

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0407x - 0.0065$ ；x 为标准品摩尔质量（nmol），y 为吸光值  $\Delta A$ 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、单位定义：每天每克土样中产生  $1\mu\text{mol}$  的  $\text{NO}_2^-$  的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NR}(\mu\text{mol/d/g 干土}) &= [(\Delta A + 0.0065) \div 0.0407 \times 10^{-3} \div V_2 \times V_1] \div W \div T \\ &= 0.153 \times (\Delta A + 0.0065) \div W \end{aligned}$$

3、单位定义：每天每克土样中产生  $1\mu\text{g}$   $\text{NO}_2^-$  的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NR}(\mu\text{g/d/g 干土}) &= [(\Delta A + 0.0065) \div 0.0407 \times 10^{-3} \div V_2 \times V_1] \div W \div T \times 46 \\ &= 7.06 \times (\Delta A + 0.0065) \div W \end{aligned}$$

V1---反应体系总体积，1mL；

T---反应时间，24h=1d；

标准品的分子量---69；

V2---③步中上清液体积， $160\mu\text{L}=0.16\text{mL}$ ；

W---样本实际质量，g；

$\text{NO}_2^-$  的分子量---46。