

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: G0309W | 方法: 微板法 | 规格: 48 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;该有色物质在 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 25mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 7mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五	A 液 6mL×1 瓶	4°C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 6mL×1 瓶		
标准品	粉体 mg×1 支	4°C保存	若重新做标曲,则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、蒸馏水。

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 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 540nm。

② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
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°C培养 24h	混匀,且务必用封口膜封口。20°C培养 24h (可放在-20°C冰箱)

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

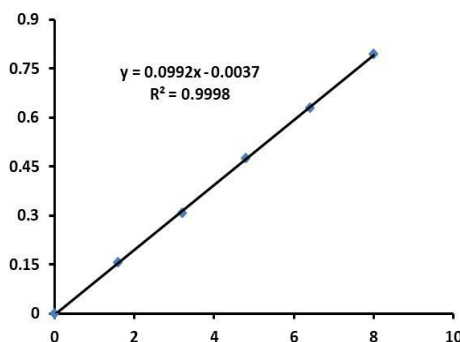
③ 显色反应，在 96 孔板中依次加入：

上清液(μL)	40	40
试剂四	60	60
反应 mix	100	100
混匀，25℃反应 5min（准确时间），立即于 540nm 处读取 A 值， ΔA=A 测定-A 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： $y = 0.0992x - 0.0037$ ；x 为标准品摩尔质量（nmol），y 为吸光值 ΔA。



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 1μmol 的 NO₂ 的量为一个酶活力单位。

$$S-NR(\mu\text{mol/d/g 土样}) = [(\Delta A + 0.0037) \div 0.0992 \times 10^{-3} \div V2 \times V1] \div W \div T$$

$$= 0.252 \times (\Delta A + 0.0037) \div W$$

3、单位定义：每天每克土样中产生 1μg 的 NO₂ 的量为一个酶活力单位。

$$S-NR(\mu\text{g/d/g 土样}) = [(\Delta A + 0.0037) \div 0.0992 \times 10^{-3} \div V2 \times V1] \div W \div T \times 46$$

$$= 11.6 \times (\Delta A + 0.0037) \div W$$

V1---反应体系总体积，1mL；

T---反应时间，24h=1d；

标准品分子量---69；

V2---③步中上清液体积，40μL=0.04mL；

W---样本实际质量，g；

NO₂ 的分子量---46。