

土壤硝酸还原酶 (S-NR) 检测试剂盒 (微量法)

货号: PMK1825

保存: -20°C 避光保存 12 个月

规格: 48T/96T

产品简介

S-NR 催化土壤中硝酸盐还原为亚硝酸盐, 是土壤硝态氮还原的关键酶。研究 S-NR 的活性对合理施肥, 降低氮素的损失具有重要意义。本试剂盒提供了一种简单的比色法来检测土壤硝酸还原酶 (S-NR)。其原理是 S-NR 催化硝酸盐还原为亚硝酸盐, $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$; 产生的亚硝酸盐能够在酸性条件下, 与对-氨基苯磺酸及 α -萘胺定量生成红色偶氮化合物; 生成的红色偶氮化合物在 540nm 有最大吸收峰, 测定 540nm 处的吸光值的增加, 可以反映 S-NR 活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	6mL	12mL	-20°C 保存
试剂二	4.5mL	9mL	-20°C 保存
试剂三	5mL	10mL	4°C, 避光保存
试剂四	5mL	10mL	4°C, 避光保存
标准品 (1M NaNO_2)	1mL	1mL	-20°C, 避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计 (能测 540nm 处的吸光值)、烘箱、水浴锅
96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头
台式离心机、30-50 目筛
去离子水

试剂准备

试剂一: 即用型; 使用前平衡到室温; -20°C 保存。

试剂二: 即用型; 使用前平衡到室温; -20°C 保存。

试剂三: 即用型; 使用前平衡到室温; 实验过程中避光放置; 避光 4°C 保存。

试剂四: 即用型; 使用前平衡到室温; 实验过程中避光放置; 避光 4°C 保存。

标准曲线设置: 取 10 μL NaNO_2 标准品 (1M) 用 990 μL 去离子水稀释至 10mM NaNO_2 。取 10 μL 10mM 的 NaNO_2 用 990 μL 去离子水稀释至 100 μM NaNO_2 。用 100 μM NaNO_2 按下表所示, 进行下一步稀释:

	标准品体积 (μL)	去离子水体积 (μL)	浓度 (μM)
Std. 1	400 μL 100 μM NaNO_2	0	100
Std. 2	200 μL of Std. 1	200	50
Std. 3	200 μL of Std. 2	200	25
Std. 4	200 μL of Std. 3	200	12.5
Std. 5	200 μL of Std. 4	200	6.25

产品说明书

Std. 6	200μL of Std. 5	200	3.13
Std. 7	200μL of Std. 6	200	1.56

注意：标准品现配现用；稀释后的标准溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中加入下列试剂）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.06	0.06	0	0
试剂一 (μL)	225	225	0	0
试剂二 (μL)	75	0	0	0

混匀后，盖盖后 37℃ 水浴 24h，8000g 25℃ 离心 10min，取上清液到新的 EP 管中

上清液 (μL)	130	130	0	0
标准液 (μL)	0	0	130	0
去离子水 (μL)	0	0	0	130
试剂三 (μL)	85	85	85	85
试剂四 (μL)	85	85	85	85

混匀，25℃ 水浴显色 20min，4000g 25℃ 离心 10min，取 200 μL 于 96 孔板或微量玻璃比色皿，测定 540nm 处的吸光值。计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，标准曲线和空白只需要测一次。
注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果样本吸光值大于 1.5，样本上清液可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将样本的 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入方程得到 y 值（ $1 \mu\text{M} = 1 \mu\text{mol/L} = 1 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$ ）。

2. S-NR 活性计算：

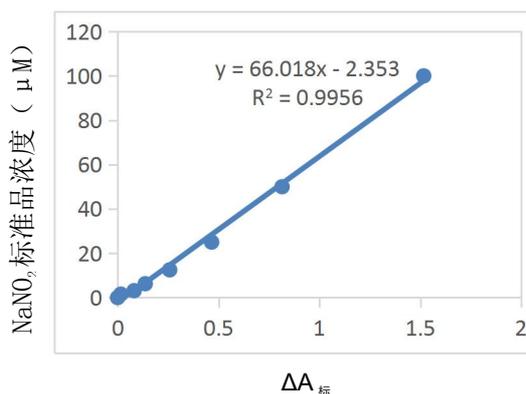
单位的定义：每天每 g 土样在反应体系中产生 $1 \mu\text{mol NO}_2^-$ 的量为一个 S-NR 活力单位。

$\text{S-NR (U/g 土样)} = y \times 10^{-3} \times V_{\text{反应}} \div W \div T = 0.005y$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.3mL；T：反应时间，24h，1d；W：样本质量，0.06g。

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



产品说明书

注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

PMK1833 土壤亚硝酸还原酶(S-NiR)检测试剂盒（微量法）

PMK1819 土壤脲酶(S-UE)检测试剂盒（微量法）

PMK1826 土壤蔗糖酶(S-SC)检测试剂盒（微量法）

PMK1829 土壤碱性磷酸酶(S-AKP/ALP)检测试剂盒（微量法）

更多产品详情了解，请关注公众号：

