

# 土壤硝酸还原酶（S-NR）检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1825

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/24S 96T/48S

## 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  $\alpha$ -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℃ 保存
试剂二	4.5mL	9mL	-20℃ 保存
试剂三	10mL	20mL	4℃，避光保存
试剂四	10mL	20mL	4℃，避光保存
标准品（1M $\text{NaNO}_2$ ）	1mL	1mL	-20℃，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℃ 保存。

试剂二：即用型；使用前平衡到室温；-20℃ 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℃ 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℃ 保存。

标准曲线设置：取 10 $\mu\text{L}$   $\text{NaNO}_2$  标准品（1M）用 990 $\mu\text{L}$  去离子水稀释至 10mM  $\text{NaNO}_2$ 。取 10 $\mu\text{L}$  10mM 的  $\text{NaNO}_2$  用 990 $\mu\text{L}$  去离子水稀释至 100 $\mu\text{M}$   $\text{NaNO}_2$ 。用 100 $\mu\text{M}$   $\text{NaNO}_2$  按下表所示，进行下一步稀释：

	标准品体积 ( $\mu\text{L}$ )	去离子水体积 ( $\mu\text{L}$ )	浓度 ( $\mu\text{M}$ )
Std. 1	400 $\mu\text{L}$ 100 $\mu\text{M}$ $\text{NaNO}_2$	0	100
Std. 2	200 $\mu\text{L}$ of Std. 1	200	50
Std. 3	200 $\mu\text{L}$ of Std. 2	200	25
Std. 4	200 $\mu\text{L}$ of Std. 3	200	12.5
Std. 5	200 $\mu\text{L}$ of Std. 4	200	6.25
Std. 6	200 $\mu\text{L}$ of Std. 5	200	3.13
Std. 7	200 $\mu\text{L}$ of Std. 6	200	1.56

## 产品说明书

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
去离子水 (μL)	0	75	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)	120	120	0	0
标准液 (μL)	0	0	120	0
去离子水 (μL)	0	0	0	120
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，计算结果乘以进一步稀释的稀释倍数，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：

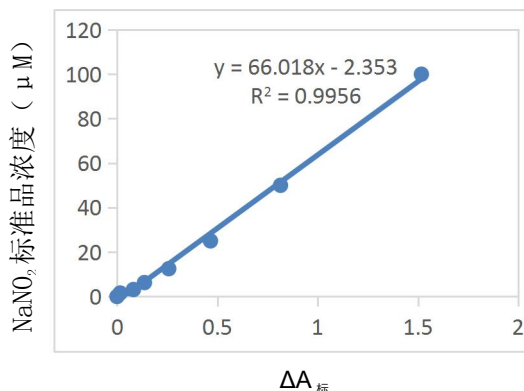
单位的定义：每天每 g 土样在反应体系中产生  $1 \mu\text{mol NO}_2^-$  的量为一个 S-NR 活力单位。

$S\text{-NR (U/g 土样)} = y \times 10^{-3} \times V_{\text{反应}} \times \text{稀释倍数} \div W \div T = 0.0125y$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.3mL；稀释倍数： $(225+75) \div 120 = 2.5$ ；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：

