

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: BN7256Q | 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°C保存	
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	液体 14mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五	A 液 12mL×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 12mL×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:

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°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		

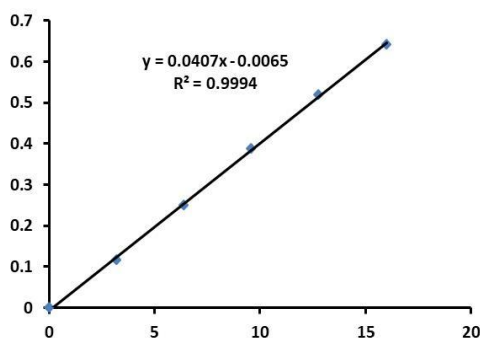
③ 显色反应，在 EP 管中依次加入：

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 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 $1\mu\text{mol}$ 的 NO_2^- 的量为一个 酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NR}(\mu\text{mol/d/g 干土}) &= [(\Delta A + 0.0065) \div 0.0407 \times 10^{-3} \div V2 \times V1] \div W \div T \\ &= 0.153 \times (\Delta A + 0.0065) \div W \end{aligned}$$

3、单位定义：每天每克土样中产生 $1\mu\text{g}$ NO_2^- 的量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NR}(\mu\text{g/d/g 干土}) &= [(\Delta A + 0.0065) \div 0.0407 \times 10^{-3} \div V2 \times V1] \div W \div T \times 46 \\ &= 7.06 \times (\Delta A + 0.0065) \div W \end{aligned}$$

V1---反应体系总体积，1mL；

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

T---反应时间， $24\text{h} = 1\text{d}$ ；

W---样本实际质量，g；

标准品的分子量---69；

NO_2^- 的分子量---46。