

## 土壤硝酸还原酶（S-NR）活性检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1297

产品规格：100管/48样

### 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。

T-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；未反应的NADH会抑制后续的显色反应，用PMS将其中和后再进行后续反应；生成的红色偶氮化合物在520nm有最大吸收峰，可用分光光度法测定。

**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。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

### 产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体25mL×1瓶	-20℃
试剂二	液体5mL×1瓶	-20℃
试剂三	液体5mL×1瓶	2-8℃
试剂四	液体5mL×1瓶	-20℃
试剂五	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂六	液体10mL×1瓶	2-8℃
标准品	液体1mL×1支	-20℃

溶液的配制：

1. 试剂五：如出现结晶析出，60℃水浴溶解后使用；
2. 标准品：10 $\mu\text{mol/mL}$ 亚硝酸钠。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、30-50目筛、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或37度烘箱风干，过30~50目筛。

#### 二、测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min以上，调节波长至520nm，蒸馏水调零。
2.  $\text{NaNO}_2$ 标准液的配制：用蒸馏水将标准品稀释1、0.8、0.6、0.4、0.2  $\mu\text{mol/mL}$ 。
3. 样本测定：

试剂名称	1.5mLEP管			
	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样（g）	0.05	0.05		
$\text{NaNO}_2$ 标准液（ $\mu\text{L}$ ）			50	



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

蒸馏水 (μL)	50	50		50
试剂一 (μL)	180	180	180	180
试剂二 (μL)	18		18	18
混匀后, 于37℃水浴24h。				
试剂三 (μL)	25	25	25	25
试剂二 (μL)		18		
立刻混匀, 8000rpm室温离心5min				
上清液 (μL)	80	80	80	80
试剂四 (μL)	20	20	20	20
混匀后, 于37℃保温20min。				
试剂五 (μL)	50	50	50	50
试剂六 (μL)	50	50	50	50

混匀, 显色20min后, 520nm下读取各管吸光值。计算  $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ,  $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。

### 三、S-NR活性计算:

#### 1. 标准曲线绘制:

以 1、0.8、0.6、0.4、0.2μmol/mL 标准溶液为横坐标,  $\Delta A_{\text{标准}}$  为纵坐标绘制标准曲线, 得到线性回归方程  $y=kx+b$ , 将  $\Delta A_{\text{测定}}$  代入方程得到  $x$  (μmol/mL)。

#### 2. S-NR活性计算

单位的定义: 每g土样每天中产生1μmol NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的量为一个S-NR活力单位。

$$S-NR (U/g) = x \times V_{\text{标准}} \div W \div T = 0.05x \div W$$

V标准: 反应体系中加入的标准液体积, 0.05mL; W: 风干土样, g; T: 反应时间, 1d。

### 注意事项:

1. 试剂一、试剂二和试剂四在冰上放置, 用完立即放回-20℃。
2. 每个测定管设一个对照管。
3.  $\Delta A_{\text{测定}}$  过小 (小于0.01), 可延长反应时间 (37℃水浴时间)。
4. 当  $\Delta A$  大于1时, 可以将上清液用蒸馏水稀释后, 再进行测定, 计算公式中乘以稀释倍数。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com