

土壤亚硝酸还原酶检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1333

产品规格：100管/48样

产品简介：

土壤亚硝酸还原酶（Solid-Nitrite reductase, S-NiR）是反硝化作用中的关键酶之一，它是由土壤反硝化细菌产生的一种还原酶类，可将NO₂⁻还原为NO，它的活性反映了生物降解过程中氮素的转化效率，为氮素转化规律的研究提供一定的依据。

亚硝酸还原酶可将NO₂⁻还原为NO，使样本中参与重氮化反应生成紫红色化合物的NO₂⁻减少，即540nm处吸光值的变化可反应土壤中亚硝酸还原酶的活性。

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。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1支	4℃
试剂二	粉剂×1瓶	4℃
试剂三	液体15mL×1瓶	4℃
试剂四	液体15mL×1瓶	4℃
试剂五	液体15mL×1瓶	4℃
标准品	液体1mL×1支	4℃

溶液的配制：

1. 试剂一：临用前加入1mL蒸馏水充分溶解，4℃保存2周。临用前根据用量用蒸馏水稀释100倍，现用现配；
2. 试剂二：临用前加15mL蒸馏水备用，4℃保存2周；
3. 试剂三：此溶液为饱和溶液，取上清使用即可；
4. 标准品：10μmol/mL亚硝酸钠标准液。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、30-50目筛、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℃烘箱烘干，过30-50目筛。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 标准液的稀释：将10μmol/mL标准液用蒸馏水稀释至0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05μmol/mL的标准液。
3. 样本测定：

	无基质管	空白管1	对照管	测定管	标准管	空白管2
风干土样（g）	-	-	0.05	0.05	-	-
蒸馏水（μL）	-	100	100		-	-
试剂一（μL）	100	-		100	-	-
试剂二（μL）	100	100	100	100	-	-



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

混匀后, 25℃反应3h						
试剂三 (μL)	100	100	100	100	-	-
充分震荡30s, 10000rpm, 4℃, 离心10min					-	-
上清液 (μL)	100	100	100	100	-	-
标准品 (μL)	-	-	-	-	100	-
试剂四 (μL)	100	100	100	100	100	100
试剂五 (μL)	100	100	100	100	100	100
蒸馏水 (μL)	-	-	-	-	-	100

充分混匀, 室温放置15min后吸取200μL于微量玻璃比色皿或96孔板中测定540nm各管吸光值, 分别记为A无基质管、A空白管1、A对照管、A测定管、A标准管和A空白管2, 计算 $\Delta A_{测定} = (A_{无基质管} - A_{空白管1}) - (A_{测定管} - A_{对照管})$, $\Delta A_{标准} = A_{标准管} - A_{空白管2}$ (无基质管、空白管1、空白管2只需做1-2次)。

三、S-NiR计算

1. 标准曲线的绘制:

以标准溶液的浓度为 x 轴, 以标准溶液对应的 ΔA 为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程 $y=kx+b$, 将 ΔA 测定带入标准方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

2. S-NiR 的计算:

酶活单位定义: 每 g 土样每天还原 $1\mu\text{mol NO}_2^-$ 的量为一个酶活力单位。

$$S\text{-NiR (U/g 土样)} = x \times V \text{ 反应} \div W \div T = 2.4 \times x \div W$$

T: 反应时间, $3h=1/8d$; V 反应: 反应体系体积, 0.3mL; W: 土样质量, g。



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