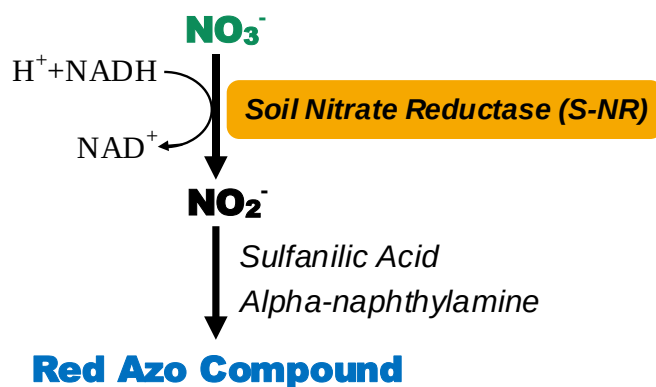




土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒

Soil Nitrate Reductase (S-NR) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒

Soil Nitrate Reductase (S-NR) Activity Assay Kit

一、产品描述

土壤硝酸还原酶 (S-NR) 可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, 其活性可以反映土壤中硝酸盐的还原能力和微生物的代谢活性, 根据土壤中硝酸盐的转化状况, 可预测土壤的氮素供应能力和植物的氮素吸收能力, 对合理施肥、降低氮素的损失等方面具有重要意义。

土壤硝酸还原酶催化硝酸盐还原为亚硝酸盐, $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$, 亚硝酸盐能够在酸性条件下, 与对-氨基苯磺酸及 α -萘胺生成红色偶氮化合物, 未反应的 NADH 会抑制后续的显色反应, 使用 PMS 将其中和后再进行后续反应, 红色偶氮化合物在 520 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值变化即可表征土壤硝酸还原酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 25 mL×1 瓶	-20°C 保存	-
试剂二	液体 3 mL×1 瓶	-20°C 避光保存	-
试剂三	液体 4 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 5 mL×1 瓶	-20°C 避光保存	-
试剂五	液体 11 mL×1 瓶	4°C 避光保存	若出现结晶析出, 60°C 水浴溶解后使用
试剂六	液体 11 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
标准液	液体 1 mL×1 支	-20°C 保存	10 $\mu\text{mol/mL}$ 亚硝酸钠标准液
标准稀释液的制备: 将 10 $\mu\text{mol/mL}$ 亚硝酸钠标准液使用蒸馏水稀释至 1.0、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液。			

序号	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	10	1.0	0.8	0.4	0.2	0.1
标准液体积 (μL)	100	400	200	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	900	100	200	200	200	200
稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	1.0	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、可调式移液器、台式离心机、烘箱、30-50 目筛、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 土壤样本的预处理

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干，过 30-50 目筛。

2. 测定步骤

① 分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 520 nm，蒸馏水调零。

② 在离心管中依次加入下列试剂（可根据预实验结果适当调整样本量）：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样 (mg)	50	50	-	-
标准稀释液	-	-	50	-
蒸馏水	50	50	-	50
试剂一	180	180	180	180
试剂二	18	-	18	18
充分混匀，37°C 准确反应 24 h				
试剂三	25	25	25	25
试剂二	-	18	-	-
充分混匀，8000 g 常温离心 5 min，取上清液				
上清液	120	120	120	120
试剂四	30	30	30	30
充分混匀，37°C 反应 20 min				
试剂五	75	75	75	75
试剂六	75	75	75	75
充分混匀，室温显色 20 min				

吸光值测定：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 520 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个对照管。

标准曲线的建立：以 1.0、0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，以其对应的 ΔA 标准为纵坐标 (y)，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 ($\mu\text{mol/mL}$)。

3.土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性计算

单位定义：每 g 土样每天生成 1 $\mu\text{mol NO}_2^-$ 的量定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-NR (U/g)} = \frac{x \times V}{W \times T} = \frac{0.05 \times x}{W}$$

注释：V：反应体系中加入标准稀释液的体积，0.05 mL；W：风干土样，g；T：反应时间，1 d。

四、注意事项

- ①试剂一、试剂二和试剂四需冰上放置，使用完成后及时置于-20℃分装保存，避免反复冻融；
- ②若测定吸光值超出标准线性范围：高于最高值建议将上清液使用蒸馏水稀释后或适当调整样本量后再进行测定，低于最低值可适当延长第一次 37℃反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- ③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

