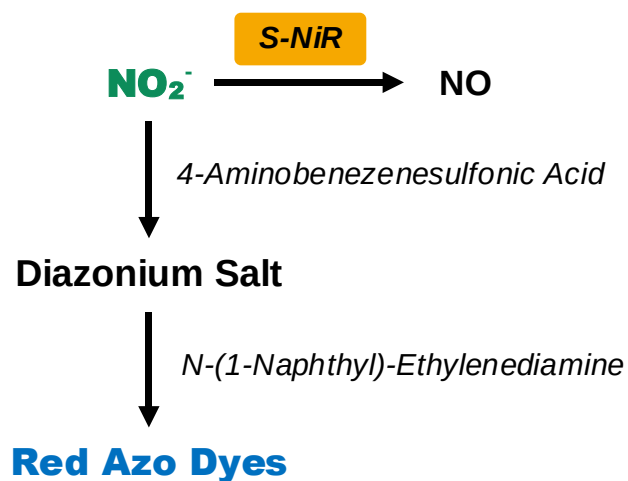




土壤亚硝酸还原酶 (S-NiR) 活性检测试剂盒
Solid Nitrite Reductase (S-NiR) Activity Assay Kit



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



土壤亚硝酸还原酶（S-NiR）活性检测试剂盒

Solid Nitrite Reductase (S-NiR) Activity Assay Kit

一、产品描述

土壤亚硝酸还原酶（S-NiR）是反硝化细菌产生的一种还原酶类，作为土壤反硝化过程中的关键酶之一，能够将 NO_2^- 还原为 NO ，其活性能够反映土壤生物降解过程中氮素的转化效率，对氮素转化规律的研究具有重要意义。

亚硝酸还原酶能够将 NO_2^- 还原为 NO ，使样品中参与重氮化反应生成紫红色化合物的 NO_2^- 减少，重氮化反应产物在 540 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值的变化即可表征土壤亚硝酸还原酶的活性。

二、产品内容

名称		试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一		液体 8 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂二		粉剂×2 瓶	4°C保存	使用前加入8 mL蒸馏水充分溶解 (4°C可保存2周，使用完成后及时置于4°C保存)
试剂三		液体 15 mL×1 瓶	4°C保存	-
显色液	A 液	液体 10 mL×1 瓶	4°C避光保存	根据使用量按照A液：B液=1:1体积比配置 (根据使用量现用现配，配置后48 h内有效)
	B 液	液体 10 mL×1 瓶	4°C避光保存	
标准液		液体 1 mL×1 支	4°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 0.5、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 $\mu\text{mol/mL}$ 即为标准稀释液。				

注：若试剂三和显色液 A 液出现沉淀属正常现象，60-80°C加热溶解后使用即可。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	10	1.0	1.0	1.0	0.2	0.1	0.05
标准液体积 (μL)	100	200	200	100	200	200	200
蒸馏水体积 (μL)	900	200	300	400	200	200	200
稀释后浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	1.0	0.5	0.4	0.2	0.1	0.05	0.025

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、研钵/匀浆器、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℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

2. 测定步骤

①可见分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 540 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	测定组 (μL)	无基质组 (μL)	无土组 (μL)	空白组 1 (μL)	标准组 (μL)	空白组 2 (μL)
风干土样 (mg)	50	50	-	-	-	-
蒸馏水	-	100	-	100	-	-
试剂一	100	-	100	-	-	-
试剂二	100	100	100	100	-	-
充分混匀，25℃准确反应 1 h						
试剂三	100	100	100	100	-	-
充分振荡 60 s，4℃ 10000 g 离心 10 min，取上清液						
在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：						
上清液	70	70	70	70	-	-
标准稀释液	-	-	-	-	70	-
蒸馏水	-	-	-	-	-	70
显色液	140	140	140	140	140	140

吸光值测定：测定 540 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 无基质、A 无土、A 空白 1、A 标准和 A 空白 2；计算 $\Delta A_{\text{测定}} = (A_{\text{无土}} - A_{\text{空白 1}}) - (A_{\text{测定}} - A_{\text{无基质}})$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白 2}}$ 。注：无土管、空白管 1、空白管 2 只需测定 1-2 次，每个样品均需设一个无基质管。

标准曲线的建立：以 0.5、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025 $\mu\text{mol/mL}$ 为横坐标 (x)，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.土壤亚硝酸还原酶（S-NiR）活性计算

单位定义：每 g 土样每天还原 1 $\mu\text{mol NO}_2^-$ 所需的酶量定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-NiR (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{酶促}}}{W \times T} = \frac{7.2 \times x}{W}$$

注释：V 酶促：酶促反应总体积，0.3 mL；W：风干土样质量，g；T：反应时间，1 h=1/24 d。

四、注意事项

①若测定吸光值超出标准线性吸光值范围：高于最高值建议适当增加样本量或将离心上清液适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当减少样本量后再进行测定，计算时相应修改；

②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.

