

# 土壤硝酸还原酶（S-NR）活性检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1296

产品规格：50管/24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30mL×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10mL×1瓶	-20℃
试剂五	液体25mL×1瓶	2-8℃
试剂六	液体25mL×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、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、30-50目筛、1mL玻璃比色皿、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0.8、0.6、0.4、0.2、0.1  $\mu\text{mol/mL}$ 。
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）	0.1	0.1		
$\text{NaNO}_2$ 标准液（ $\mu\text{L}$ ）			100	



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

蒸馏水 (μL)	100	100		100
试剂一 (μL)	365	365	365	365
试剂二 (μL)	35		35	35
混匀后, 于37℃水浴24h。				
试剂三 (μL)	50	50	50	50
试剂二 (μL)		35		
立刻混匀, 8000rpm室温离心5min				
上清液 (μL)	400	400	400	400
试剂四 (μL)	100	100	100	100
混匀后, 于37℃保温20min。				
试剂五 (μL)	250	250	250	250
试剂六 (μL)	250	250	250	250

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0.8、0.6、0.4、0.2、0.1μmol/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。

$$S-NR (U/g) = x \times V_{\text{标准}} \div W \div T = 0.1x \div W$$

V标准: 反应体系中加入的标准液体积, 0.1mL; 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

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com