

## Soil Nitrate Reductase Activity Assay Kit

### 土壤硝酸还原酶(S-NR)活性检测试剂盒 微板法

产品编号	产品名称	规格
BL1766B	土壤硝酸还原酶(S-NR)活性检测试剂盒 微板法	48T

#### 产品简介:

土壤硝酸还原酶可以把土壤中的硝酸盐转变为亚硝酸盐，然后再通过亚硝酸还原酶的作用转变成氮循环的重要原料-铵，从而调节氮代谢，并影响到光合碳代谢，进而影响植物生长。

本试剂盒提供一种快速、精确的测定方法，土壤硝酸还原酶催化硝酸盐还原为亚硝酸盐；同时抑制亚硝酸还原酶对产生的亚硝酸盐的降解，亚硝酸盐与对应的显色剂反应生成（粉）红色偶氮化合物；该物质在 540nm 有最大吸收峰，进而得出土壤硝酸还原酶的活性。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	25mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	7mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五 A	6mL×1 瓶	4°C保存	临用前，可依据待检测样本数量，把 A 液和 B 液等比例混合成无色的反应 mix（ <b>注意观察，若变粉色，则不能使用</b> ）。两天之内用完。
试剂五 B	6mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干，先粗研磨，过 40 目筛网，备用。

【注】：土壤风干，减少土壤中水分对于实验的干扰；土壤过筛，保证取样的均匀细腻。

##### 二、样品测定

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm。
2. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样 (g)	0.25	0.25
试剂一	200	200
试剂二	50	50
蒸馏水	250	250
	混匀，且务必用封口膜封口。25°C培养 24h	混匀，且务必用封口膜封口。-20°C培养 24h（可放在-20°C冰箱）
试剂三	500	500
混匀，12000rpm，4°C离心 10min，上清液待用		

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



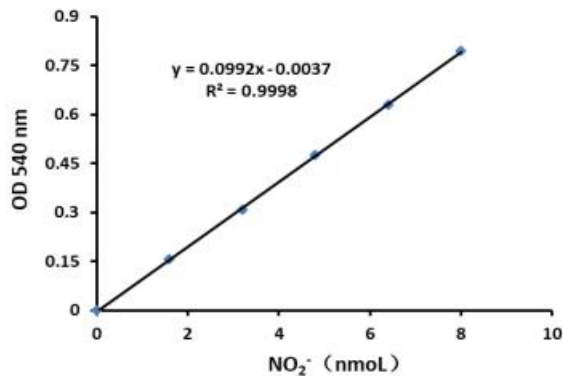
3. 显色反应，在 96 孔板中依次加入：

上清液 (μL)	40	40
试剂四	60	60
反应 mix	100	100
混匀，25°C 反应 5min (准确时间)，立即于 540nm 处读取 A 值， $\Delta A = A$ 测定-A 对照 (每个样本做一个自身对照管)。		

【注】：若  $\Delta A$  低于 0.01，可增加第③步中上清液体积 V2 (如由 40μL 增至 100μL，则试剂四减至 0μL，保持总体积仍为 200μL)，则改变后的 V2 带入公式重新计算

### 三、结果计算

1. 标准曲线方程： $y = 0.0992x - 0.0037$ ；x 为标准品摩尔质量 (nmol)，y 为吸光值  $\Delta A$ 。



2. 单位定义：每天每克土样中产生 1μmol 的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的量为一个酶活力单位。

$$S-NR(\mu\text{mol/d/g 土样}) = [(\Delta A + 0.0037) \div 0.0992 \times 10^{-3} \div V2 \times V1] \div W \div T$$

$$= 0.252 \times (\Delta A + 0.0037) \div W$$

3. 单位定义：每天每克土样中产生 1μg 的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的量为一个酶活力单位。

$$S-NR(\mu\text{g/d/g 土样}) = [(\Delta A + 0.0037) \div 0.0992 \times 10^{-3} \div V2 \times V1] \div W \div T \times 46$$

$$= 11.6 \times (\Delta A + 0.0037) \div W$$

V1----反应体系总体积，1mL

T----反应时间，24h=1d

V2---2 步中上清液体积，40μL=0.04mL

W----样本实际质量，g

标准品的分子量---69

NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的分子量---46

#### 附：标准曲线制作过程：

1. 制备标准品母液 (100μmol/mL)：把标准品完全溶解于 1mL 蒸馏水中 (母液需在两天内用且 -20°C 保存)。
2. 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度标准品：0, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.2 μmol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
3. 依据显色反应阶段的测定管的加样顺序操作，根据结果即可制作标准曲线。

#### 注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 有效期：

4°C 保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

