

土壤硝酸还原酶（S-NR）活性检测试剂盒说明书

货号：RX845W24

规格：50 管/24 样

方法：酶标仪法

一、注意事项

1.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测（可与正式实验同时培养，显色时先进行预实验，预实验显色完成后确保测定管吸光度值不大于 3.2，当吸光度值大于 3.2 时，需对上清进一步稀释直到小于 3.2，记录稀释倍数，正式实验的稀释按此倍数进行）。

2.本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

| 试剂名称 | 试剂规格 | 保存条件 | 备注 |
|------|-------------|-------|----------------------|
| 试剂一 | 液体 4.5 mL×1 | -20°C | |
| 试剂二 | 粉剂×1 | 4°C | 使用时加入 4.5 mL 超纯水/蒸馏水 |
| 试剂三 | 液体 4.5 mL×1 | -20°C | |
| 试剂四 | 6 mL×1 | 4°C避光 | 若出现晶体析出，60~90°C水浴助溶 |
| 试剂五 | 6 mL×1 | 4°C避光 | |

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

五、样品制备：

新鲜土样自然风干或 37°C烘箱风干，过 60 目筛备用。

五、测定步骤

1.酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 540 nm 处。

2.在 1.5 mL 离心管中依次加入（加入下列试剂时确保准确，降低误差）：

| 试剂名称 | 测定管 | 对照管 |
|---------------|------|------|
| 风干土样（g） | 0.05 | 0.05 |
| 试剂一（ μ L） | 150 | - |
| 蒸馏水（ μ L） | - | 150 |

| | | |
|---|-----|-----|
| 试剂二 (μL) | 75 | 75 |
| 试剂三 (μL) | 75 | 75 |
| <p>(1) 震荡混匀后于 37°C 恒温箱中培养 24 h。10000 g 常温离心 10 min;</p> <p>(2) 将酶促反应的上清液稀释 (选取 2~3 个预期差异较大的进行预实验, 上清通常需要稀释 20~100 倍, 具体倍数参照预实验记录的稀释倍数进行。)</p> <p>(3) 按下表取上清加入新的 1.5 mL 离心管, 并加入下表试剂进行显色</p> | | |
| 稀释后上清 (μL) | 50 | 50 |
| 试剂四 (μL) | 100 | 100 |
| 实际五 (μL) | 100 | 100 |
| <p>1. 混匀后, 室温放置 30 min 显色 (显色时, 须将离心管盖子盖上);</p> <p>2. 混匀显色后的液体, 吸取 200 μL 加入 96 孔板于 540 nm 处读取吸光值, 读吸光值 A, 计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$。每个测定管设一个对照管。(须尽快进行检测)</p> | | |

六、计算

1. 标准方程

标准条件下测得回归方程为 $y = 4.6689x + 0.0191$, $R^2 = 0.9998$, x 为标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$), y 为吸光值 A 。

2. 单位定义

每天每 g 土样中产生 1 $\mu\text{mol NO}_2^-$ 定义为一个酶活力单位 (U)。

土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性 ($\mu\text{mol/d/g 土样}$) = $(\Delta A - 0.0191) / 4.6689 \times F \times V$ 反总 $\div W \div T = 0.06425 \times (\Delta A - 0.0324) \div W \times F$

T: 反应时间, 1d; F: 稀释倍数; V 反总: 反应体系总体积, 0.3 mL; W: 样本质量, g。

七、产品简介

土壤硝酸还原酶是反硝化过程中的关键酶, 参与反硝化过程的第一步反应, 通常在缺氧、厌氧环境中启动, 催化硝酸盐 (NO_3^-) 还原为亚硝酸盐 (NO_2^-), 使硝态氮进一步转化为氨态氮以利于植物和微生物吸收利用。