

土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒 (微量法)

产品货号: BA1297

产品规格: 100管/48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 α -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25mL×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5mL×1瓶	-20℃
试剂五	液体10mL×1瓶	2-8℃
试剂六	液体10mL×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/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、30-50目筛、微量玻璃比色皿/96孔板、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. 分光光度计或酶标仪预热30min以上, 调节波长至520nm, 蒸馏水调零。
2. NaNO_2 标准液的配制: 用蒸馏水将标准品稀释1、0.8、0.6、0.4、0.2 $\mu\text{mol/mL}$ 。
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)	0.05	0.05		



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

NaNO ₂ 标准液 (μL)			50	
蒸馏水 (μL)	50	50		50
试剂一 (μL)	180	180	180	180
试剂二 (μL)	18		18	18
混匀后, 于37℃水浴24h。				
试剂三 (μL)	25	25	25	25
试剂二 (μL)		18		
立刻混匀, 8000rpm室温离心5min				
上清液 (μL)	80	80	80	80
试剂四 (μL)	20	20	20	20
混匀后, 于37℃保温20min。				
试剂五 (μL)	50	50	50	50
试剂六 (μL)	50	50	50	50

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 1、0.8、0.6、0.4、0.2 μmol/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 1 μmol NO₂⁻ 的量为一个S-NR活力单位。

$$S-NR (U/g) = x \times V_{\text{标准}} \div W \div T = 0.05x \div W$$

V标准: 反应体系中加入的标准液体积, 0.05mL; 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 $\Delta A_{\text{测定}}$ 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