

土壤亚硝酸还原酶(S-NiR)检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1833

保存：-20℃避光保存 12 个月

规格：48T/24S 96T/48S

产品简介

土壤亚硝酸还原酶（Solid-Nitrite reductase, S-NiR）是反硝化作用中的关键酶之一，它是由土壤反硝化细菌产生的一种还原酶类，参与亚硝酸盐至 NO 的还原反应，它的活性反映了生物降解过程中氮素的转化效率，为氮素转化规律的研究提供一定的依据。本试剂盒提供了一种简单的比色法来检测土壤亚硝酸还原酶（S-NiR）。其原理是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；生成的红色偶氮化合物在 540nm 有最大吸收峰。亚硝酸还原酶可将亚硝酸盐还原为 NO，使样本中参与重氮化反应生成紫红色化合物的 NO₂⁻ 减少，即 540nm 处吸光值减少。通过测定 540nm 处的吸光值的变化可反应土壤中亚硝酸还原酶的活性。

产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	2mL	4mL	-20℃，避光保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	4℃ 保存
试剂三	2mL	4mL	4℃ 保存
试剂四	5mL	10mL	4℃，避光保存
试剂五	5mL	10mL	4℃，避光保存
标准品（1M NaNO ₂ ）	1mL	1mL	-20℃，避光保存

自备耗材

酶标仪或可见光分光光度计（能测 540nm 处的吸光值）、烘箱、水浴锅

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

台式离心机、30-50 目筛

去离子水

试剂准备

试剂一：即用型；使用前平衡到室温；-20℃避光保存。

试剂二：临用前48T加2mL去离子水，96T加4mL去离子水溶解；4℃保存一个月或分装-20℃长期保存。

试剂三：即用型；使用前平衡到室温；4℃保存。如出现沉淀可以 70-80℃加热溶解

试剂四：即用型；使用前平衡到室温；实验过程中避光放置；避光 4℃保存。

试剂五：即用型；使用前平衡到室温；实验过程中避光放置；避光 4℃保存。

工作液：临用前根据用量将试剂四和试剂五以 1:1 的比例混合。

标准品：含 1M NaNO₂，使用前平衡到室温；分装-20℃避光保存。

标准曲线设置：取 10μL NaNO₂ 标准品（1M）用 990μL 去离子水稀释至 10mM NaNO₂。取 10μL 10mM 的 NaNO₂ 用 990μL 去离子水稀释至 100μM NaNO₂。用 100μM NaNO₂ 按下表所示，进行下一步稀释：

	标准品体积（μL）	去离子水体积（μL）	浓度（μM）
--	-----------	------------	--------

产品说明书

Std. 1	400μL 100μM NaNO ₂	0	100
Std. 2	200μL of Std. 1	200	50
Std. 3	200μL of Std. 2	200	25
Std. 4	200μL of Std. 3	200	12.5
Std. 5	200μL of Std. 4	200	6.25
Std. 6	200μL of Std. 5	200	3.13
Std. 7	200μL of Std. 6	200	1.56

注意：标准品现配现用；稀释后的标准溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30-50 目筛。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 540nm，可见光分光光度计去离子水调零。
2. 样本测定（在 EP 管中操作）：

试剂名称	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样（g）	0.02	0.02	0	0
去离子水（μL）	0	40	0	0
试剂一（μL）	40	40	0	0
试剂二（μL）	40	0	0	0

混匀后，25℃ 反应 1h

试剂三（μL）	40	40	0	0
充分震荡 30S，10000rpm，4℃，离心 10min，取上清液加入 96 孔板或微量玻璃比色皿中				
上清液（μL）	60	60	0	0
标准液（μL）	0	0	60	0
去离子水（μL）	0	0	0	60
工作液（μL）	140	140	140	140

充分混匀，37℃ 孵育 30min 后测定 540nm 处吸光值，计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。每个测定管需设一个对照，标准曲线和空白只需要测一次。

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 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 1.0，样本反应后的上清液可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以进一步稀释的稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将样本的 $\Delta A_{\text{测}}$ 代入方程得到 y 值（ $1 \mu\text{M} = 1 \mu\text{mol/L} = 1 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL}$ ）。

2. S-NiR 活性计算：

单位的定义：每天每 g 土样在反应体系中还原 $1 \mu\text{mol NO}_2^-$ 的量为一个酶活力单位 U。

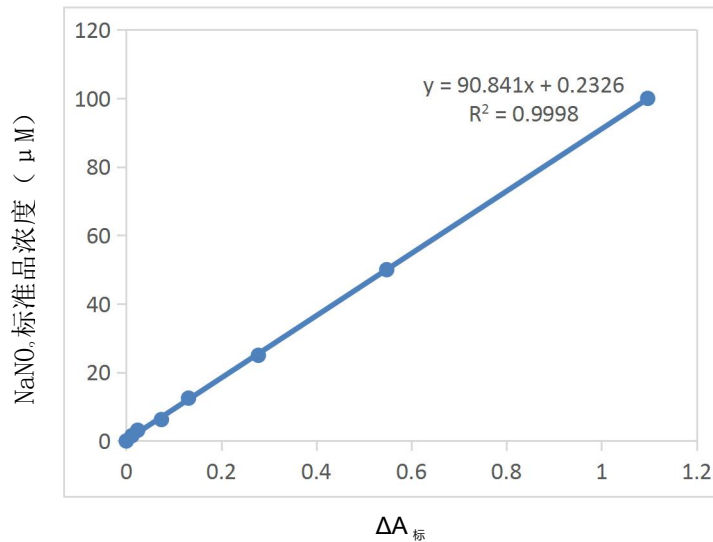
$S\text{-NiR (U/g 土样)} = y \times 10^{-3} \times V_{\text{反应}} \times \text{稀释倍数} \div W \div T = 0.192y$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.08mL；稀释倍数： $(40+40+40) \div 60 = 2$ ；T：反应时间，1h=1/24d；W：样本质量，0.02g。

产品说明书

结果展示

典型标准曲线-以下数据和曲线仅供参考，实验者需根据自己的实验建立标准曲线。



注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验，尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究，如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途，我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用，并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用；否则，可能导致结果异常。
5. 勤换吸头，避免各组分之间的交叉污染。

相关产品：

- PMK1825 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1819 土壤脲酶 (S-UE) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1826 土壤蔗糖酶 (S-SC) 检测试剂盒 (微量法)
- PMK1829 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解，请关注公众号：

