

土壤硝酸还原酶(S-NR)活性检测试剂盒

Soil Nitrate Reductase Assay Kit

可见分光光度法

货号: AK184

规格: 50T/24S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK184-A	10mL×1 瓶	-20℃保存;
AK184-B	4mL×1 瓶	-20℃保存;
AK184-C	12.5mL×1 瓶	4℃保存 (如出现结晶析出, 60 度水浴溶解后使用)。
AK184-D	12.5mL×1 瓶	4℃保存;
AK184-E	1mL×1 支	(10μmol/mL 亚硝酸钠), -20℃保存;
0.1μmol/mL 标准液配制: 临用前取 0.1ml AK184-E 加蒸馏水至 10ml		

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介:

意义: 土壤硝酸还原酶 (Solid-Nitrate Reductase, 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。研究土壤硝酸还原酶的活性对合理施肥, 降低氮素的损失具有重要意义。

原理: 土壤硝酸还原酶 (S-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; 生成的红色偶氮化合物在 540 nm 有最大吸收峰, 可用分光光度法测定。

自备用品:

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰和蒸馏水。

测定步骤:

1. 分光光度计预热30min 以上, 调节波长至540nm, 蒸馏水调零。
2. 打开水浴锅, 调节温度到 37℃。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
风干土样 (g)	0.1 g	0.1 g		
0.1μmol/mL 标准液			100	
蒸馏水		500		600
AK184-A	375		375	
AK184-B	125		125	
混匀, 盖盖后, 37℃水浴60min, 8000g 25℃离心10min, 取上清液				
上清液	400	400	400	400
AK184-C	250	250	250	250
AK184-D	250	250	250	250
混匀, 显色 20min 后, 4000g, 25℃离心 10min, 用蒸馏水调零, 540nm 下读取各管吸光 值。记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。				

注意: 标准管和空白管只需测一次。每个测定管设一个对照管。

S-NR 活性计算：

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1 μ mol NO₂ 的量为一个 S-NR 活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NR 活性 } (\mu\text{mol/d/g}) &= C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T \\ &= 12 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \end{aligned}$$

注： C 标准管：标准管浓度，0.1 μ mol/mL； V 反总：反应体系总体积，0.5mL； T：反应时间，1h=1/24d； W：样本质量，0.1g。