

M5 HiPer 土壤亚硝酸还原酶检测试剂盒 微量法

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 土壤亚硝酸还原酶检测试剂盒 微量法	100 管/48 样	MF750-01

【储存条件】

4 度保存

【产品组成】

试剂一：液体 4mL×1 瓶，4℃保存。

试剂二：粉剂×1 瓶，4℃保存。临用前加 4mL 蒸馏水溶解。

试剂三：液体 4mL×1 瓶，4℃保存。

试剂四：液体 6mL×1 瓶，4℃避光保存。

试剂五：液体 6mL×1 瓶，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。

【产品简介】

土壤亚硝酸还原酶是反硝化作用中的关键酶之一，参与亚硝酸盐至 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。亚硝酸还原酶可将 NO₂-还原为 NO，使样品中参与重氮化反应生成紫红色化合物的 NO₂-减少，即 540nm 处吸光值的变化可反应土壤中亚硝酸还原酶的活性。

【自备仪器】

天平、可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、低温离心机、微量石英比色皿/96 孔板。

【注意事项】

正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定；

配制好的试剂二和工作液 3 天内使用完。

【操作步骤】

	空白管	对照管	测定管
风干土样 (g)		0.02	0.02
蒸馏水 (μL)		40	
试剂一 (μL)	40		40
试剂二 (μL)	40	40	40
混匀后, 25℃反应1h			
试剂三 (μL)	40	40	40
充分震荡30s, 10000rpm, 4℃, 离心10min			
上清液 (μL)	100	100	100
工作液 (μL)	50	50	50
充分混匀, 室温静置显色 20min, 于微量石英比色皿/96 孔板中测定 540nm 各管吸光值, 分别记为 A 空白管、A 对照管、A 测定管。			

a) 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线: $y = 0.0129x - 0.0106$, $R^2 = 0.9985$

酶活单位定义: 每 g 土样每 24h 还原 $1 \mu\text{mol NO}_2^-$ 的量为一个酶活力单位。

$S\text{-NiR} (\mu\text{mol/d/g 干重}) = [A \text{ 空白管} - (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) + 0.0106] \div 0.0129 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 186.05 \times [A \text{ 空白管} - (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) + 0.0106] \div W V$

反总: 反应体系总体积, 0.1mL; T: 反应时间, $1h = 1/24d$; W: 样本质量, g。

b) 使用 96 孔板测定的计算公式如下:

标准曲线: $y = 0.0065x - 0.0106$, $R^2 = 0.9985$

酶活单位定义: 每 g 土样每 24h 还原 $1 \mu\text{mol NO}_2^-$ 的量为一个酶活力单位。

$S\text{-NiR} (\mu\text{mol/d/g 干重}) = [A \text{ 空白管} - (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) + 0.0106] \div 0.0065 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 369.23 \times [A \text{ 空白管} - (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管}) + 0.0106] \div W V$

反总: 反应体系总体积, 0.1mL; T: 反应时间, $1h = 1/24d$; W: 样本质量, g

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。