

CheKine™ 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒 (微量法)

货号: KTB4010

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 土壤样本
	保质期: -20℃, 避光保存 12 个月

01 背景与原理

土壤硝酸还原酶 (Soil Nitrate Reductase, S-NR) 催化硝酸盐还原为亚硝酸盐,
 $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$;

本试剂盒检测原理是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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	15 mL	30 mL	-20℃
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃
Reagent III	11 mL	22 mL	4℃
Reagent IV	11 mL	22 mL	4℃, 避光保存
Standard	1 mL	2 mL	-20℃

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 540 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	PBS/去离子水	试剂/检测体系配制用
其他	震荡仪、台式离心机、水浴锅、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本公司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用时全程置于冰上	未用完的试剂-20℃分装保存 1 个月，禁止反复冻融
Working Reagent II	临用前配制，48 T 加入 10 mL PBS，96 T 加入 20 mL PBS，充分溶解后使用，使用时全程置于冰上	未用完的试剂-20℃分装保存 1 个月，禁止反复冻融
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存（如出现结晶析出，60℃-90℃水浴溶解后使用）
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
0.1 μmol/mL Standard	临用前配制，取 0.1 mL Standard 加蒸馏水定容至 10 mL，即为 0.1 μmol/mL 标准液，现配现用，使用时全程置于冰上	未用完的 Standard -20℃分装保存 1 个月，禁止反复冻融

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在-80℃保存 1 个月。

- 土壤样本：新鲜土样自然风干或 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

05-3 实验步骤

- 1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 540 nm。
- 2. 检测体系配制：空白孔和标准孔只需测定 1 次。每个测定管设一个对照管。在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	空白管 (μL)	标准管 (μL)
风干土样 (mg)	60	60	0	0
0.1 μmol/mL Standard	0	0	0	60
去离子水	0	225	285	0
Reagent I	225	0	0	225
Working Reagent II	75	75	75	75
混匀，37℃震荡 24 h 后 8000 g，25℃离心 10 min，取上清液用于检测				
上清液	130	130	130	130
Reagent III	85	85	85	85
Reagent IV	85	85	85	85

3. 吸光度检测：混匀，室温显色 20 min，4000 g，25℃离心 10 min，取 200 μL 上清液至 96 孔板中，测定 540 nm 处吸光值。分别记录为 A_{测定}、A_{对照}、A_{标准}、A_{空白}。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ 、 $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

2. 样本 S-NR 活性计算

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

$S-NR(U/g) = C_{标准} \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times V_{总} \div W \div T = 0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}$

C_{标准}：标准管浓度，0.1 μmol/mL；V_总：反应体系总体积，0.3 mL；T：反应时间，1 d；W：样本称重，0.06 g。

07 结果展示

示例-1：取 0.06 g 土壤样本，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照} = 1.321 - 0.046 = 1.275$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白} = 0.141 - 0.045 = 0.096$ 。计算得：S-NR (U/g) = $0.5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} = 6.641$ U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{测定}$ 过高或者过低怎么办？

如果 $\Delta A_{测定}$ 小于 0.02 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测定}$ 大于 1.2 可适当减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3040	CheKine™ 谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3041	CheKine™ 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法）

CheKine™ 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测流程示意图

(Abbkine 货号：KTB4010)

样本处理



土壤样本

新鲜土样自然风干或37℃烘箱风干，过30-50目筛



标准品配制



测定管



对照管



空白管



标准管

风干土样	60 mg	风干土样	60 mg	去离子水	285 μ L	Standard	60 μ L
Reagent I	225 μ L	去离子水	225 μ L	Working Reagent II	75 μ L	Reagent I	225 μ L
Working Reagent II	75 μ L	Working Reagent II	75 μ L			Working Reagent II	75 μ L

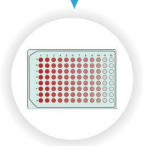
体系配置

混匀，37℃震荡24 h后8000 g，25℃离心10 min，取上清液用于检测

上清液	130 μ L	上清液	130 μ L	上清液	130 μ L	上清液	130 μ L
Reagent III	85 μ L	Reagent III	85 μ L	Reagent III	85 μ L	Reagent III	85 μ L
Reagent IV	85 μ L	Reagent IV	85 μ L	Reagent IV	85 μ L	Reagent IV	85 μ L

混匀，室温显色20 min，4000 g，25℃离心10 min，取200 μ L上清液至酶标板

数据检测



测定540 nm吸光度结果计算