



土壤亚硝酸还原酶活性检测试剂盒

S-NiR Assay Kit

可见分光光度法

产品编号：AK453V

产品规格：50T/24S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK453-A	10mL×1 瓶	4℃保存；
AK453-B	粉剂×1 瓶	4℃保存；临用前加10mL蒸馏水溶解。
AK453-C	10mL×1 瓶	4℃保存。（如出现沉淀可以70-80℃加热溶解）
AK453-D	25mL×1 瓶	4℃避光保存；（如出现沉淀可以70-80℃加热溶解）
AK453-E	25mL×1 瓶	4℃避光保存；
AK453-标准品	2mL×1 支	4℃保存
工作液配制	临用前根据用量将 AK453-D 和 AK453-E 以1:1的比例混合。	

※ 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：土壤亚硝酸还原酶（Solid-Nitrite reductase, S-NiR）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。

原理：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。

自备用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、水浴锅、低温离心机、天平。

样本处理

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定步骤：

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
- 标准液的稀释：将 10μmol/mL 的标准溶液用蒸馏水等比稀释至 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1、0.05、0.03μmol/mL 标准溶液待测。
- 样本测定（在 EP 管中依次加入下列试剂）：

	基质管	对照管	测定管	标准管	空白管
风干土样 (g)		0.1	0.1		
蒸馏水 (μL)		200			
AK453- A (μL)	200		200		
AK453- B (μL)	200	200	200		
混匀后，25℃反应 1h					
AK453-C (μL)	200	200	200		
充分震荡 30S，10000rpm，4℃，离心 10min					
上清液 (μL)	500	500	500		
标准溶液 (μL)				500	
蒸馏水 (μL)					500
工作液 (μL)	1000	1000	1000	1000	1000

充分混匀，用蒸馏水调零，静置 3min 后测定 540nm 处各管吸光值，分别记为 A 基质管、A 对照管、A 测定管、A 标准管和 A 空白管，计算 ΔA 测定=A 基质管-（A 测定管-A 对照管）， ΔA 标准=A 标准管-空白管。空白管、标准管和基质管只需测 1-2 次，每个测定管需设一个对照管。

计算公式：

1. 标准曲线的绘制

以标准溶液浓度为 x 轴（x, $\mu\text{mol/mL}$ ），标准溶液对应的 ΔA 标准为 y 轴（y, ΔA 标准），建立标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 ΔA 测定带入方程得到 x（ $\mu\text{mol/mL}$ ）。

2. 酶活计算

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

$$S\text{-NiR } (\mu\text{mol/d/g 土样}) = x \times V \text{ 标} \div W \div T = 0.96x \div W$$

注：T：反应时间， $1\text{h}=1/24\text{d}$ ；V 标：标准液体积，0.04mL；W：样本质量，g。

注意事项：

1. 配制好的工作液 3 天内使用完。
2. 若吸光值超过 1.5，将上清液进行适当的稀释后再加入工作液显色，并在计算公式中乘以稀释倍数。
3. 严格控制显色时间，否则会对结果有影响。
4. 标准曲线线性范围为 $0.03 \mu\text{mol/mL}$ - $1.5 \mu\text{mol/mL}$ 。
5. A 空白管-（A 测定管-A 对照管）线性范围为 0.02-3。