



## 土壤亚硝酸还原酶活性检测试剂盒

### S-NiR Assay Kit

微量法

产品编号: AK453M

产品规格: 100T/48S

产品组成及保存条件:

编号	规格	储存条件
AK453-A	7mL×1 瓶	4℃保存;
AK453-B	粉剂×1 瓶	4℃保存; 临用前加11mL蒸馏水溶解, 4℃可保存4周。
AK453-C	15mL×1 瓶	4℃保存 (如出现沉淀取上清使用即可)
AK453-D	12mL×1 瓶	4℃保存 (如出现沉淀可以50℃加热溶解)
AK453-E	12mL×1 瓶	4℃保存
AK453-标准品	1mL×1 支 (10umol/ml)	4℃保存; 临用前取40ul,加入960ul蒸馏水, 配成0.4umol/ml标准品, 现用现配
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,现用现配。	

※ 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 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>还原为 NO, 使样品中参与重氮化反应生成紫红色化合物的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>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/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、水浴锅、低温离心机、天平、30-50 目筛、研钵、冰和蒸馏水。

**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:**

1. 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 540nm, 分光光度计蒸馏水调零。
2. 样本测定:

	无基质管	对照管	测定管	空白管 1	标准管	空白管 2
风干土样 (g)		0.05	0.05			
蒸馏水 (μL)		100		100		
AK453- A (μL)	100		100			
AK453- B (μL)	100	100	100	100		
混匀后, 25℃反应 3h						
AK453-C (μL)	100	100	100	100		
充分震荡 30S, 10000rpm, 4℃, 离心 10min						
上清液 (μL)	50	50	50	50		
标准溶液 (μL)					50	
蒸馏水 (μL)						50
工作液 (μL)	200	200	200	200	200	200

充分混匀，静置 15min 后测定 540nm 处吸光值，分别记为 A 无基质管、A 对照管、A 测定管、A 空白管 1、A 标准管和 A 空白管 2，计算  $\Delta A$  测定 = (A 无基质管 - A 空白管 1) - (A 测定管 - A 对照管)， $\Delta A$  标准 = A 标准管 - 空白管 2。空白管 1、2、标准管和无基质管只需测 1-2 次，每个测定管需设一个对照管。

**计算公式：**

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。

$$\text{S-NiR (U/g 土样)} = (\Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \times C \text{ 标准}) \times V \text{ 反应} \div W \div T = 0.96 \times \Delta A \text{ 测定} \div \Delta A \text{ 标准} \div W$$

注：C 标准：标准品浓度， $0.4\mu\text{mol/ml}$ ；T：反应时间， $3\text{h}=1/8\text{d}$ ；V 反应：离心前反应体系体积， $0.3\text{mL}$ ；W：样本质量，g。

**注意事项：**

严格控制反应时间，否则会对结果有影响。