



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 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/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 ΔA 测定 = (A 无基质管-A 空白管 1) - (A 测定管-A 对照管)， ΔA 标准=A 标准管-A 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。

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

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， 0.3mL ；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。