



土壤亚硝酸还原酶 (S-NiR) 活性检测试剂盒说明书

规格: 100 管/48 样 方法: 酶标仪法

一、注意事项

- 1.正式检测前选取 2~3 个预期差异较大的样本进行预检测。
- 2.本试剂盒仅用于科研。
- 3.为确保检测的准确性,显色完成后要尽快测定。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	3 mL×1	4°C	
试剂二	粉剂×1	4°C	临用前加入 6 mL 超纯水/蒸馏水溶解。
试剂三	6 mL ×1	4°C	使用前 70~80°C水浴 5 min。
试剂四	A 液体 11mL×1, B 液 11mL×1	4°C	使用前将溶液 B70~80°C水浴 5 min。 临用前根据用量将 A 液和 B 液等量混合, 尽快使用。

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、水浴锅/恒温培养箱。

五、测定步骤

- 1.酶标仪预热 30 min 以上, 波长调至 400 nm 处。
- 2.在 1.5 mL 离心管中依次加入(加入下列试剂时确保准确, 降低误差):

试剂名称	测定管	对照管	空白管
风干土样 (g)	0.02	0.02	-
试剂一 (μL)	50	-	50
蒸馏水 (μL)	-	50	-
试剂二 (μL)	50	50	50
充分混匀26°C培养 1 h, 培养结束后在管中加入下列试剂			
试剂三 (μL)	50	50	50
充分震荡 30s, 10000 g, 4°C, 离心 10 min, 按下表取上清加入新的 1.5 mL 离心管, 并加入下表试剂			



上清液 (μL)	50	50	50
试剂四 (μL)	200	200	200

充分混匀，静置 3 min，取 200 μL 于 96 孔板中，在 540 nm 下读吸光值 A，分别记 A 测定管、A 对照管、A 空白。计算 $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}})$ 。每个测定管设一个对照管，空白管只需做 2-3 管算平均值。

六、计算

1. 标准方程

标准条件下测得回归方程为 $y = 2.2557x + 0.0176$ ， $R^2 = 0.9995$ ；x 为标准品浓度 (μmol/mL)，y 为吸光值。

2. 酶活单位定义

每克土样每天还原 1 μmol NO₂⁻ 为一个酶活力单位 U。

土壤亚硝酸还原酶 (S-NiR) 活性 (μmol/d/g 土样) = (ΔA - 0.0176) ÷ 2.2557 × V

反 ÷ W ÷ T = 1.596 × (ΔA - 0.0176) ÷ W

T: 反应时间, 1h = 1/24 d; V 反: 反应体积, 0.15 mL; W: 样本质量, g

七、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，能催化亚硝酸盐还原为一氧化氮。亚硝酸根是土壤氮转化过程中的重要中间产物，若在土壤中积累，可能对植物根系和土壤微生物产生毒害作用。而土壤亚硝酸还原酶能够催化亚硝酸根还原为一氧化氮、一氧化二氮或氨等物质，从而避免亚硝酸根的过度积累，推动氮素在土壤中的进一步循环与利用。