# 土壤亚硝酸还原酶（S-NiR）活性检测试剂盒说明书

货号：RX843W24　　规格：50 管/24 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 | 1.5 mL×1 | 4℃ | |
| 试剂二 | 粉剂×1 | 4℃ | 临用前加入 3 mL 超纯水/蒸馏水溶解。 |
| 试剂三 | 3 mL ×1 | 4℃ | 使用前 70~80℃水浴 5 min。 |
| 试剂四 | A 液体 6 mL×1，B 液 6 mL×1 | 4℃避光 | 使用前将溶液 B70~80℃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。

## 四、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℃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℃，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ΔA=A 空白-（A 测定管-A 对照管）。每个测定管设一个对照管，空白管只需做 2~3 管。 | | | |

## 五、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 $NO_2^-$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=1/24d；V 反：反应体积，0.15 mL；W：样本质量，g

## 六、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。