

## Soil Nitrite Reductase Activity Assay Kit

### 土壤亚硝酸还原酶(S-NiR)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1767A	土壤亚硝酸还原酶(S-NiR)活性检测试剂盒 分光法	24T

#### 产品简介:

土壤亚硝酸还原酶是反硝化作用的关键酶，它是由土壤反硝化细菌产生的一种还原类酶，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。

土壤亚硝酸还原酶可将 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>还原为 NO，使样品中参与重氮化反应生成（粉）红色化合物的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>减少，该（粉）红色物质在 540nm 有最大吸收峰，通过检测 540nm 处吸光值的变化来反应土壤亚硝酸还原酶的活性。

#### 产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	15mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	30mL×1 瓶	4°C保存	有沉淀，临用前混匀即可
试剂三	12mL×1 瓶	4°C保存	试剂会出现过饱和，临用前 25°C水浴，5min 即可使用。
试剂四 A	21mL×1 瓶	4°C保存	临用前，可依据待检测样本数量，把 A 液和 B 液等比例混合成无色的反应 mix（注意观察，若变粉色，则不能使用），两天之内用完。
试剂四 B	21mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	粉末×1 支	4°C保存	若重新做标曲，则用到该试剂

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干，先粗研磨，过 40 目筛网，备用。

【注】：土壤风干，减少土壤中水分对于实验的干扰；土壤过筛，保证取样的均匀细腻。

##### 二、样品测定

1. 可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。
2. 在离心管中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	无基质对照管	无土对照管 (仅做一次)
土样 (g)	0.1	0.1	-
试剂一	400	-	400
蒸馏水	800	1200	800
试剂二	500	500	500
混匀，且务必用封口膜封口，25°C，培养 24h			
试剂三	200	200	200

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



混匀，12000rpm，4℃离心 10min，上清液待用

3. 显色反应，2步得到的上清液用蒸馏水稀释 70 倍后，在离心管中依次加：

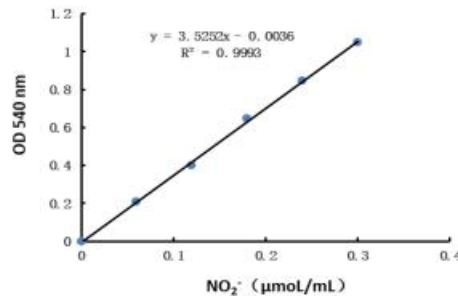
上清液	70	70	70
反应 mix	700	700	700

混匀，25℃反应 5min（准确时间），取出全部澄清液体至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，立即于 540nm 处读取 A 值， $\Delta A = A_{\text{无土对照管}} - (A_{\text{测定管}} - A_{\text{无基质对照管}})$ ，（每个样本需做一个自身对照）。

【注】：若  $\Delta A$  值低于 0.01，可增加土壤样本取样质量 W（如由 0.1g 增至 0.25g），则改变后的 W 需带入公式重新计算。

### 三、结果计算

1. 标准曲线方程： $y = 3.5252x - 0.0036$ ；x 为标准品浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y 为吸光值  $\Delta A$ 。



2. 单位定义：每克土样每天还原 1 $\mu\text{mol}$  的  $\text{NO}_2^-$  量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NiR} (\mu\text{mol/d/g 土壤}) &= [(\Delta A + 0.0036) \div 3.5252 \times V1] \div W \div T \times D \\ &= 0.54 \times (\Delta A + 0.0036) \div W \times 70 \end{aligned}$$

3. 单位定义：每克土样每天还原 1 $\mu\text{g}$  的  $\text{NO}_2^-$  量为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NiR} (\mu\text{g/d/g 土壤}) &= [(\Delta A + 0.0036) \div 3.5252 \times V1] \div W \div T \times 46 \times D \\ &= 24.8 \times (\Delta A + 0.0036) \div W \times 70 \end{aligned}$$

V1---反应体系总体积，1900 $\mu\text{L}$ =1.9mL

T---反应时间，24h=1d

D---稀释倍数，70 倍

W---样本实际质量，g

标准品的分子量---69

$\text{NO}_2^-$  的分子量---46

### 附：标准曲线制作过程：

- 制备标准品母液（100 $\mu\text{mol/mL}$ ）：把标准品完全溶解于 1mL 蒸馏水中（母液需在两天内用且-20℃保存）。
- 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.3  $\mu\text{mol/mL}$ 。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 依据显色反应阶段的测定管的加样顺序操作，根据结果即可制作标准曲线。

### 注意事项：

- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 有效期：

4℃保存六个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

