

土壤硝酸还原酶(S-NR)试剂盒说明书

| 产品货号 | 产品名称 | 包装规格 | 测定方法 |
|-----------|---------------|------|------|
| SMHB1-C24 | 土壤硝酸还原酶(S-NR) | 24T | 常量法 |
| SMHB1-C48 | 试剂盒 | 48T | |

一、测定意义

土壤硝酸还原酶是土壤氮素反硝化过程中的两种关键酶之一，其活性强弱影响着到土壤氮代谢过程中氮素的气态损失，间接影响到氮肥的利用效率和大气氮污染。同时也受农田耕作制度、管理措施、自然或人为扰动、以及土壤条件如水分、温度、土壤质地的强烈影响。

二、测定原理

土壤硝酸还原酶(S-NR)催化硝酸盐还原为亚硝酸盐，将 $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$ ；产生的亚硝酸盐能够在酸性条件下，与对氨基苯磺酸和 α -萘胺生成红色偶氮化合物；生成的红色偶氮化合物在 540nm 有最大吸收峰。

三、试剂组成

| 试剂名称 | 试剂装量(24T) | 试剂装量(48T) | 保存条件 |
|--|-------------|-------------|--------|
| 试剂一 | 液体 15mL×1 瓶 | 液体 30mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂二 | 粉剂×1 瓶 | 粉剂×2 瓶 | -20℃保存 |
| 试剂二的配制： 每支加 10ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃可存一周。 | | | |
| 试剂三 | 液体 6mL×1 瓶 | 液体 12mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂四 | 液体 13mL×1 瓶 | 液体 25mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 试剂五 | 液体 13mL×1 瓶 | 液体 25mL×1 瓶 | 2-8℃保存 |
| 显色剂配制： 按试剂四：试剂五=1:1 的比例配制，用多少配多少。 | | | |
| 标准品 (10μmol/mL) | 液体 1mL×1 支 | 液体 1mL×2 支 | 2-8℃保存 |

四、操作步骤

1、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃烘箱风干，过 30-50 目筛。

2、操作步骤

1)分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零。

2)测定前将试剂恢复至常温；

3)将 10μmol/mL 的标准品溶液用蒸馏水稀释成 0、0.01、0.02、0.04、0.05、0.08、0.1μmol/mL 的标准液进行标准曲线的制备。

①培养反应（在 2.0mL 离心管中加入以下试剂）

| 试剂名称 | 基质管 | 测定管 | 对照管 |
|--|-----|-----|-----|
| 土样（g） | - | 0.1 | 0.1 |
| 蒸馏水（μL） | - | - | 450 |
| 试剂一（μL） | 450 | 450 | - |
| 试剂二（μL） | 150 | 150 | 150 |
| 混匀，37℃孵育 24h 后，混匀，10000 转/min 常温离心 10min，取上清液备用。 | | | |

②显色反应（在 2.0mL 离心管中加入以下试剂）

| 试剂名称 | 基质管 | 测定管 | 对照管 | 标准管 | 空白管 |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|
| 上清液（μL） | 400 | 400 | 400 | - | - |
| 标准液（μL） | - | - | - | 400 | - |
| 蒸馏水（μL） | - | - | - | - | 400 |
| 试剂三（μL） | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 25℃反应 10min | | | | | |
| 显色剂（μL） | 400 | 400 | 400 | 400 | 400 |
| 混匀，室温静置 5min，波长 540nm，酶标仪测定各管吸光度值，记为 A _{基质} ，A _{测定} ，A _{对照} ，A _{标准} ，A _{空白} ；每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管；基质管、标准管和空白管一批实验只需做一个。 | | | | | |

五、单位定义与计算

单位定义：每天每克土壤中产生 1μmol NO₂⁻ 的量为一个酶活力单位。

计算公式：根据吸光度值和标准液浓度拟合标准曲线，将各管吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y（μmol/mL）。

$$\text{NR(U/g 土样)} = (Y_{\text{测定}} - Y_{\text{对照}} - Y_{\text{基质}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

T: 反应时间, 24h=1d; $V_{\text{反应}}$: 反应体系总体积, 0.5mL; W: 样本质量, 0.1g。

六、注意事项

- 1、比色时, 溶液呈现红色, 在 2h 内保持稳定。
- 2、不同土壤样本的硝酸还原酶活性差异较大, 先做预实验确认样本活力。可适当调整反应时间或者取样量, 计算公式对应改变即可。

【厂家信息】

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日