

## 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-M48	土壤硝酸还原酶(S-NR) 试剂盒	48T	微量法
SMHB1-M96		96T	

### 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 $\alpha$ -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(48T)	试剂装量(96T)	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
每支加 10ml 双蒸水，现用现配，配完-20℃可保存一周。			
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 (10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ )	液体 1mL×1 支	液体 1mL×1 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)酶标仪预热 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 10 $\mu\text{mol}/\text{mL}$  的标准品溶液用蒸馏水稀释成 0、0.01、0.02、0.04、0.05、0.08、0.1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$  的标准液进行标准曲线的制备。

#### ①培养反应（试剂依次加入离心管中）

	基质管	测定管	对照管
土样 (g)	-	0.05	0.05
蒸馏水 ( $\mu\text{L}$ )	-	-	225
试剂一 ( $\mu\text{L}$ )	225	225	-
试剂二 ( $\mu\text{L}$ )	75	75	75
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（试剂依次加入 96 孔板中）

	基质管	测定管	对照管	标准管	空白管
上清液 ( $\mu\text{L}$ )	100	100	100	-	-
标准液 ( $\mu\text{L}$ )	-	-	-	100	-
蒸馏水 ( $\mu\text{L}$ )	-	-	-	-	100
试剂三 ( $\mu\text{L}$ )	25	25	25	25	25
25℃反应 10min					
显色剂 ( $\mu\text{L}$ )	100	100	100	100	100
混匀，室温静置 5min，波长 540nm，酶标仪测定各管吸光度值。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 1 $\mu\text{mol}$   $\text{NO}_2^-$  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 ( $\mu\text{mol}/\text{mL}$ )。

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

T：反应时间，24h=1 d； $V_{\text{反应}}$ ：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