

## 土壤硝酸还原酶(S-NR)活性检测试剂盒

### Soil Nitrate Reductase Assay Kit

微量法

货号：AK185

规格：100T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK185-A	12mL×1 瓶	-20℃保存；
AK185-B	5mL×1 瓶	-20℃保存；
AK185-C	10mL×1 瓶	4℃保存（如出现结晶析出，60 度水浴溶解后使用）；
AK185-D	10mL×1 瓶	4℃保存；
AK185-E	1mL×1 支	(10μmol/mL 亚硝酸钠)，-20℃保存；
0.1μmol/mL 标准液配制：临用前取 0.1ml AK185-E 加蒸馏水至 10ml		

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：土壤硝酸还原酶（Solid-Nitrate Reductase, S-NR）催化土壤中硝酸盐还原为亚硝酸盐，是土壤硝态氮还原的关键酶。研究土壤硝酸还原酶的活性对合理施肥，降低氮素的损失具有重要意义。

原理：土壤硝酸还原酶（S-NR）催化硝酸盐还原为亚硝酸盐， $\text{NO}_3^- + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$ ；产生的亚硝酸盐能够在酸性条件下，与对-氨基苯磺酸及  $\alpha$ -萘胺定量生成红色偶氮化合物；生成的红色偶氮化合物在 540 nm 有最大吸收峰，可用分光光度法测定。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水、30-50 目筛。

土样处理：

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min 以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。
2. 打开水浴锅，调节温度到 37℃。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂：

试剂名称	测定管 (ul)	对照管 (ul)	标准管 (ul)	空白管 (ul)
风干土样 (g)	0.06 g	0.06 g		
0.1μmol/mL 标准液			60	
蒸馏水		300		360
AK185-A	225		225	
AK185-B	75		75	
混匀，盖盖后，37℃水浴60min，8000g 25℃离心10min，取上清液				
上清液	130	130	130	130
AK185-C	85	85	85	85
AK185-D	85	85	85	85
混匀，显色 20min 后，4000g，25℃离心 10min，取 200uL 上清液至微量石英比色皿或 96 孔板中，540nm 下读取各管吸光值。记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。				

**注意：**标准管和空白管只需测 1-2 次，每个测定管设一个对照管。

**S-NR 活性计算：**

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1 $\mu$ mol NO<sub>2</sub> 的量为一个 S-NR 活力单位。

$$\begin{aligned} \text{S-NR 活性 } (\mu\text{mol /d/g}) &= C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T \\ &= 12 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \end{aligned}$$

**注：** C 标准管：标准管浓度，0.1 $\mu$ mol/mL； V 反应：反应体系总体积，0.3mL； T：反应时间，1h=1/24d； W：样本质量，0.06g。