

## 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)试剂盒	24T	常量法
SMHB1-C48		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

土壤硝酸还原酶将  $\text{NO}_3^-$  还原为  $\text{NO}_2^-$ ，通过  $\text{NO}_2^-$ -N 与格里试剂反应所产生的颜色深浅来表示硝酸还原酶活性。

### 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	6mL×1 瓶	15mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂二	3mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存
试剂三应用液的配制：用时每支粉剂加入 6mL 蒸馏水，充分溶解，2-8℃ 保存			
试剂四	6mL×1 瓶	15mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂五	7mL×1 瓶	12mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂六	7mL×1 瓶	12mL×1 瓶	2-8℃ 保存
显色剂的配制：将试剂五：试剂六=1：1 等比例混合，现用现配			
标准品溶液 (10 $\mu$ mol/mL)	1.5mL×1 支	1.5mL×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 培养反应

	基质管	测定管	对照管
土样 (g)	-	0.1	0.1
试剂一 ( $\mu$ L)	100	100	100

试剂二 (μL)	100	100	-
试剂三 (μL)	100	100	100
蒸馏水 (μL)	700	700	800
混匀, 37℃ 孵育 24h 后			
试剂四 (μL)	100	100	100

混匀, 10000 转/min 常温离心 10min, 取上清液备用。

## ② 显色反应

	无土基质管	测定管	对照管	标准管
稀释后的上清液 (μL)	100	100	100	-
不同浓度的标准液 (μL)	-	-	-	100
显色剂 (μL)	200	200	200	200
蒸馏水 (μL)	700	700	700	700

混匀, 室温静置 20min, 波长 520nm, 1cm 光径, 蒸馏水调零, 测定各管吸光度值。

**注: 每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管, 无土基质管一批实验只需做一个;**

## 五、单位定义与计算

**单位定义:** 每天每克土壤还原 1μmol NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 为一个酶活力单位

**计算公式:** 根据标准曲线, 将各管吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (μmol/mL)

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

**T:** 反应时间, 24h=1 d;

**V<sub>反应</sub>:** 反应体系总体积, 1.1mL;

**W:** 样本质量, 0.1g。

### 计算举例:

取土样 0.1g 实验, 测得测定管吸光度为 0.178, 对照管吸光度为 0.035, 无土基质管吸光度值为 0.022, 按计算公式计算得:

根据标准曲线, 得到 Y<sub>测定管</sub>=0.044μmol/mL, Y<sub>对照管</sub>=0.003 μmol/mL, Y<sub>基质管</sub>= 0.000μmol/mL

$$S-NR(U/g \text{ 土样}) = (0.044 - 0.003 - 0.000) \times 1.1 \div 0.1 \div 1 = 0.451 (U/g)$$

## 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。

## 七、相关产品

- 1、土壤蔗糖酶 (S-SC) 检测试剂盒
- 2、土壤酸性蛋白酶(S-ACPr)检测试剂盒

## 八、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。

## 附录 I：标准曲线的制备

### 1、前处理：

将 10 $\mu$ mol/mL 的标准品溶液用蒸馏水稀释成 0、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.4 $\mu$ mol/mL 标准品进行标准曲线的制备。

### 2、操作表：

标准液浓度 ( $\mu$ mol/mL)	0	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	0.4
不同浓度的标准液 ( $\mu$ L)	100	100	100	100	100	100	100
显色剂 ( $\mu$ L)	200	200	200	200	200	200	200
蒸馏水 ( $\mu$ L)	700	700	700	700	700	700	700

混匀，室温静置 20min，波长 520nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

### 3、测定结果：

标准浓度 ( $\mu$ mol/mL)	测定 OD	绝对 OD 值
0.00	0.015	0.000
0.01	0.057	0.042
0.02	0.083	0.068
0.05	0.222	0.207
0.10	0.383	0.368
0.20	0.727	0.712
0.40	1.436	1.421

