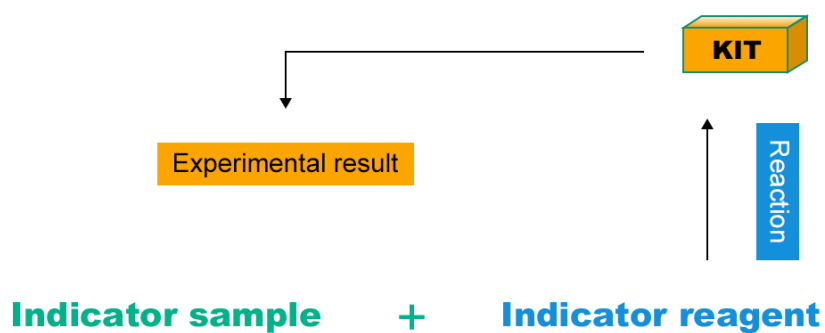


上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0845

Size: 50T/24S

土壤亚硝酸还原酶 (S-NiR) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、测定意义:

土壤亚硝酸还原酶是反硝化作用中的关键酶之一,参与亚硝酸盐至 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。

二、测定原理:

亚硝酸还原酶可将 NO_2^- 还原为 NO,使样品中参与重氮化反应生成紫红色化合物的 NO_2^- 减少,即 540nm 处吸光值的变化可反应土壤中亚硝酸还原酶的活性。

三、需自备的仪器和用品:

天平、可见分光光度计、水浴锅、低温离心机、1mL 玻璃比色皿。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	临用前加 10mL 蒸馏水充分溶解
试剂三	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂四	液体 25mL×1 瓶	4℃避光保存	使用前 50℃加热溶解
试剂五	液体 25mL×1 瓶	4℃保存	

五、测定操作：

	空白管	对照管	测定管	无底物管
风干土样 (g)		0.1	0.1	
蒸馏水 (μL)		200		200
试剂一 (μL)	200		200	
试剂二 (μL)	200	200	200	200
混匀后，25℃反应 1h				
试剂三 (μL)	200	200	200	200
充分震荡 30s，1000rpm，4℃，离心 10min				
上清液 (μL)	500	500	500	500
试剂四 (μL)	500	500	500	500
试剂五 (μL)	500	500	500	500
充分混匀，室温静置显色 10min，用蒸馏水调零，于 1mL 玻璃比色皿中测定 540nm 各管吸光值（参照注意事项二），分别记为 A 空白管、A 对照管、A 测定管、A 无底物管。A 空白管和 A 无底物管只需各做一管。				

六、计算公式：

酶活单位定义：每 g 土样每 24h 还原 1 μmol NO₂⁻ 的量为一个酶活力单位。

$$NiR (\mu\text{mol} / \text{d} / \text{g 干重}) = \text{底物消耗量} (\mu\text{mol}) \div W \div T = C \text{ 标准} \times [(A \text{ 空白管} - A \text{ 无底物管}) - (A \text{ 测定管} - A \text{ 对照管})] \div (A \text{ 空白管} - A \text{ 无底物管}) \times V \text{ 加样} \div W \div T$$

C 标准：标准品浓度为 72.5 μmol/ml；V 加样：反应体系加入样本的体积，0.2mL；T：反应时间，1h=1/24d；W：样本质量，g。

七、注意事项：

1. 配制好的试剂二需 3 天内使用完。
2. 若吸光值超过 2，将上清液用蒸馏水（无亚硝酸盐污染）进行适当的稀释后再加入工作液显色，并在计算公式中乘以稀释倍数。