

土壤亚硝酸还原酶（S-NiR）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC2990

规格：50T/24S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 7 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1mL×1 支	2-8℃保存

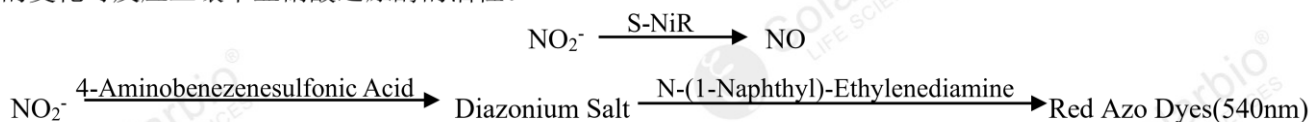
溶液的配制：

- 1、试剂二：临用前加 12mL 蒸馏水，充分溶解，2-8℃保存 4 周。
- 2、试剂三：临用前加 15mL 蒸馏水，充分溶解，此溶液为饱和溶液，取上清使用即可。用不完的试剂 2-8℃保存 4 周。
- 3、试剂五：若试剂有结晶析出，可 50℃水浴加热溶解。
- 4、显色液：临用前根据样本数量按照试剂四：试剂五=400μL：400μL（800μL，1T）的比例配制显色液，现用现配。
- 5、标准品：10μmol/mL 亚硝酸钠标准品。临用前取 20μL 10μmol/mL 标准品，加入 980μL 蒸馏水，配制成 0.2μmol/mL 标准品，现用现配。

产品说明：

土壤亚硝酸还原酶（Solid-Nitrite reductase, S-NiR）是反硝化作用中的关键酶之一，它是由土壤反硝化细菌产生的一种还原酶类，可将NO₂⁻还原为NO，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。

亚硝酸还原酶可将NO₂⁻还原为NO，使样本中参与重氮化反应生成紫红色化合物的NO₂⁻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。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计、低温离心机、水浴锅、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、30-50目筛、研钵、冰和蒸馏水。





操作步骤:

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

新鲜土样自然风干或 37℃烘箱烘干，过 30-50 目筛。

二、测定步骤

1、分光光度计预热30min 以上，调节波长至540nm，蒸馏水调零。

2、样本测定：

试剂名称	无基质管	空白管1	对照管	测定管	标准管	空白管2
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	-	-
充分混匀后，25℃水浴准确反应3h						
试剂三 (μL)	200	200	200	200	-	-
漩涡震荡30s，10000rpm，4℃，离心10min						
上清液 (μL)	200	200	200	200	-	-
标准品 (μL)	-	-	-	-	200	-
蒸馏水 (μL)	-	-	-	-	-	200
显色液 (μL)	800	800	800	800	800	800
充分混匀，25℃放置15min后，测定540nm处各管吸光值，分别记为A无基质管、A空白管1、A对照管、A测定管、A标准管和A空白管2，计算ΔA测定=(A无基质管-A空白管1)-(A测定管-A对照管)，ΔA标准=A标准管-A空白管2（标准管、无基质管、空白管1、空白管2只需做1-2次）。						

三、S-NiR 活性计算

酶活单位定义：每g土样每天还原1μmol NO₂ 的量为一个酶活性单位。

S-NiR活性 (U/g 土样) = (ΔA测定÷ΔA标准×C标准) ×V反应÷W÷T = 0.96×ΔA测定÷ΔA标准÷W

C标准：标准品浓度，0.2μmol/mL；V反应：离心前反应体系体积，0.6mL；T：反应时间，3h=1/8d；W：土样质量，g。

实验实例：

1、取 0.103g 风干过筛的野蘑菇生境土壤样本，按照测定步骤操作，使用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定=(A 无基质管-A 空白管 1) - (A 测定管-A 对照管) = (1.051-0.003) - (1.074-0.069) =0.043，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管 2=0.486-0.006=0.480，按样本质量计算：

S-NiR 活性 (U/g 土样) = 0.96×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W =0.835 U/g 土样。

2、取 0.100g 风干过筛的槐树生境土壤样本，按照测定步骤操作，使用 1mL 玻璃比色皿测得计算 ΔA 测定=(A 无基质管-A 空白管 1) - (A 测定管-A 对照管) = (1.051-0.003) - (1.025-0.081) =0.104，ΔA 标准=A 标准管-A 空白管 2=0.486-0.006=0.480，按样本质量计算：

S-NiR 活性 (U/g 土样) = 0.96×ΔA 测定÷ΔA 标准÷W =2.08 U/g 土样。

相关发表文献：



- [1] Yi M, Zhang L, Li Y, Qian Y. Structural, metabolic, and functional characteristics of soil microbial communities in response to benzo[a]pyrene stress. J Hazard Mater. 2022 Jun 5;431:128632. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.128632. Epub 2022 Mar 5. PMID: 35278957.
- [2] Wen Z, Yao W, Han M, Xu X, Wu F, Yang M, Fazal A, Yin T, Qi J, Lu G, Yang R, Song X, Yang Y. Differential assembly of root-associated bacterial and fungal communities of a dual transgenic insect-resistant maize line at different host niches and different growth stages. Front Microbiol. 2022 Sep 29;13:1023971. doi: 10.3389/fmicb.2022.1023971. PMID: 36246225; PMCID: PMC9557180.
- [3] Li M, Chen Y, Feng Y, Li X, Ye L, Jiang J. Ecological Responses of Maize Rhizosphere to Antibiotics Entering the Agricultural System in an Area with High Arsenicals Geological Background. Int J Environ Res Public Health. 2022 Oct 19;19(20):13559. doi: 10.3390/ijerph192013559. PMID: 36294139; PMCID: PMC9603512.

相关系列产品:

- BC3010/BC3015 土壤羟胺还原酶 (S-HR) 活性检测试剂盒
- BC1970/BC1975 土壤木质素过氧化物酶 (S-Lip) 活性检测试剂盒
- BC4030/BC4035 土壤 β -1,4-葡聚糖酶/纤维二糖苷酶 (S-C1) 活性检测试剂盒
- BC4020/BC4025 土壤亮氨酸氨基肽酶 (S-LAP) 活性检测试剂盒
- BC0240/BC0245 土壤蔗糖酶 (S-SC) 活性检测试剂盒
- BC3100/BC3105 土壤硝酸还原酶 (S-NR) 活性检测试剂盒

流程图:

