

土壤硝酸还原酶（S-NR）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号：BC3100

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 30 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂二	液体 5 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂三	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四	液体 10 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂五	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂六	液体 25 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	-20℃保存

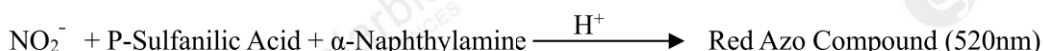
溶液的配制：

- 1、试剂五：如出现结晶析出，60℃水浴溶解后使用；
- 2、标准品：10μmol/mL 亚硝酸钠。

产品说明：

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S-NR的活性对合理施肥，降低氮素的损失具有重要意义。

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 α -萘胺定量生成红色偶氮化合物；未反应的NADH会抑制后续的显色反应，用PMS将其中和后再进行后续反应；生成的红色偶氮化合物在 520 nm 有最大吸收峰，可用分光光度计测定。



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、恒温水浴锅/水浴锅、台式离心机、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）

新鲜上样自然风干或 37 度烘箱风干，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520nm，蒸馏水调零。
- 2、NaNO₂标准液的配制：用蒸馏水将标准品稀释0.8、0.6、0.4、0.2、0.1μmol/mL。
- 3、标准品稀释表：

序号	稀释前浓度 (μmol/mL)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 (μmol/mL)
1	10	100	900	1
2	1	160	40	0.8
3	1	120	80	0.6
4	1	80	120	0.4
5	1	40	160	0.2
6	1	20	180	0.1

备注：下述实验中每个标准管需100μL标准溶液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）

- 4、样本测定：

试剂名称	1.5mLEP管			
	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.1	0.1		
NaNO ₂ 标准液 (μL)			100	
蒸馏水 (μL)	100	100		100
试剂一 (μL)	365	365	365	365
试剂二 (μL)	35		35	35
混匀后，置于37℃水浴锅/恒温培养箱反应24h。				
试剂三 (μL)	50	50	50	50
试剂二 (μL)		35		
立刻混匀，8000rpm室温离心5min				
上清液 (μL)	400	400	400	400
试剂四 (μL)	100	100	100	100
混匀后，置于37℃水浴锅/恒温培养箱保温20min。				
试剂五 (μL)	250	250	250	250
试剂六 (μL)	250	250	250	250

混匀，显色20min后，520nm下读取各管吸光值，分别记为A测定、A对照、A标准、A空白。计算ΔA测定=A测定-A对照，ΔA标准=A标准-A空白。每个测定管需设一个对照管。标准曲线和空白管只需检测1-2次。

三、S-NR活性计算

- 1、标准曲线绘制：

以0.8、0.6、0.4、0.2、0.1μmol/mL标准溶液为横坐标（x轴），ΔA标准为纵坐标（y轴）绘制标准曲线，得到线性回归方程 $y=kx+b$ ，将ΔA测定代入方程得到x（μmol/mL）。

- 2、S-NR活性计算：

单位的定义：每g土样每天中产生1μmol NO₂⁻的量为一个 S-NR活力单位。



$S-NR (U/g \text{ 质量}) = x \times V_{\text{标准}} \div W \div T = 0.1x \div W$

V标准: 反应体系中加入的标准液体积, 0.1mL; W: 风干土样, g; T: 反应时间, 1d。

注意事项:

- 1、试剂一、试剂二和试剂四在冰上放置, 用不完的试剂-20℃分装保存, 避免反复冻融。
- 2、 ΔA 测定过小(小于0.01), 可延长反应时间(37℃水浴时间)。
- 3、当 ΔA 大于1时, 可以将上清液用蒸馏水稀释后, 再进行测定, 计算公式中乘以稀释倍数。

相关发表文献:

- [1] Pu Q, Zhang K, Poulain AJ, Liu J, Zhang R, Abdelhafiz MA, Meng B, Feng X. Mercury drives microbial community assembly and ecosystem multifunctionality across a Hg contamination gradient in rice paddies. *J Hazard Mater.* 2022 Aug 5;435:129055. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.129055. Epub 2022 May 4. PMID: 35650726.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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:

- BC2990/BC2995 土壤亚硝酸还原酶(S-NiR)活性检测试剂盒
BC0040/BC0045 土壤硝态氮含量检测试剂盒
BC1510/BC1515 土壤硝态氮含量检测试剂盒

