

土壤硝酸还原酶（S-NR）检测试剂盒（分光光度法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

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。

测定原理：

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；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。

试剂组成和配制：

试剂一：液体 10mL×1 瓶，-20℃ 保存。

试剂二：液体 8mL×1 瓶，-20℃ 保存。

试剂三：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存（如出现结晶析出，60℃-90℃ 水浴溶解后使用）。

试剂四：液体 15mL×1 瓶，4℃ 保存。

试剂五：标准品储备液 1mL，-20℃ 保存。

0.1 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ 标准液的配制：用时将试剂五稀释 100 倍，即取 0.1ml 加蒸馏水定容至 10ml。

样品处理：

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

测定步骤表:

试剂名称	1mL 带盖离心管			
	测定管	对照管	标准管	空白管
风干土样 (g)	0.1	0.1		
0.1 μ mol/mL 标准液 (μ L)			100	
蒸馏水 (μ L)		375		475
试剂一 (μ L)	375		375	
试剂二 (μ L)	125	125	125	125

混匀后, 盖盖后 37 $^{\circ}$ C 水浴 24h, 8000g25 $^{\circ}$ C 离心 10min, 取上清液

上清液 (μ L)	400	400	400	400
试剂三 (μ L)	250	250	250	250
试剂四 (μ L)	250	250	250	250

混匀, 25 $^{\circ}$ C 显色 20min 后, 4000g, 25 $^{\circ}$ C 离心 10min, 用蒸馏水调零, 540nm 下读取各管吸光值。

标准管和空白管只需测一次。每个测定管设一个对照管。

注意:

务必先做 2 个样本的预测定, 少部分土壤由于样本特殊性可能出现测定管小于对照管, 请及时与我司技术支持联系, 以获得针对样本特殊性的调整测定方法。

S-NR 活性计算:

单位的定义: 每天每 g 土样中产生 1 μ mol NO₂⁻ 的量为一个 S-NR 活力单位。

$$S-NR (\mu\text{mol}/\text{d}/\text{g 土样}) = C_{\text{标准}} \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}) \times V_{\text{反总}} \div W \div T$$

$$= 0.5 \times (A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}) \div (A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}})$$

C 标准管: 标准管浓度, 0.1 μ mol/mL;

V 反总: 反应体系总体积, 0.5mL;

T: 反应时间, 24h;

W: 样本质量, 0.1g。