**亚硝酸还原酶**

1. **方法原型**

通过亚硝酸盐与格里斯试剂反应，测定酶促反应前后NO2-N的变化量，用以表示亚硝酸还原酶活性。

1. **试剂配置**
2. 0.5%NaNO2溶液
3. 1%葡萄糖
4. CaCO3
5. 铝钾矾饱和溶液
6. 格里斯试剂：用比重为1.04的醋酸分别配置0.1%α-萘胺溶液（a）和0.5%对-氨基苯磺酸溶液（b），用前将等体积（a）、（b）液混合即成。
7. 亚硝酸钠标准溶液：准确称取0.1500gNaNO2溶于1ml蒸馏水中。使用前稀释100倍配制成工作液（1ml含0.001mgNO2）

标准曲线绘制：取工作液1-10ml移于50ml容量瓶中，加1ml格里斯试剂。15min后定容比色测定（波长为550-600nm）。以光密度值为纵坐标，浓度为横坐标绘制标准曲线。

1. **操作步骤**

称1g土壤置于100ml减压瓶中。加20mgCaCO3仔细混合。加入1ml0.5%NaNO2溶液和1ml1%葡萄糖溶液（作为氢的供体）。以后按测定硝酸还原酶步骤操作。

吸取1ml滤液移于50ml容量瓶中，加5ml蒸馏水和4ml格里斯试剂，显色后定容，比色。

亚硝酸还原酶活性，以24h后，10g土壤中被还原的NO2-N的毫克数表示。

1. **计算公式**

亚硝酸还原酶活性[mgNO2-N/（10g干土\*24h）]=（m0-m）x10/dwt

式中，m0、m分别代表土壤反应前后亚硝酸态氮量的毫克数（mg），dwt为烘干土壤重量（g）