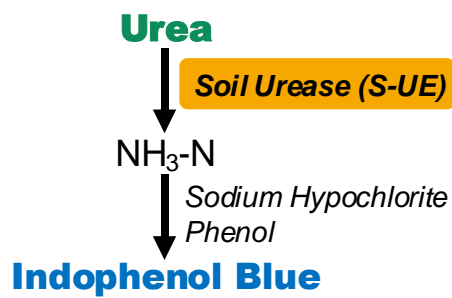




土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒
Soil Urease (S-UE) Activity Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒

Soil Urease (S-UE) Activity Assay Kit

一、产品描述

土壤脲酶 (S-UE) 是能够高度专一性催化尿素分解生成氨和碳酸的水解酶, 其活性与土壤微生物数量、有机物质含量、全氮和速效磷含量呈正相关, 可以反映土壤有机氮及其转化状况, 并可作为判断土壤肥力和氮素营养水平的一个重要指标。

脲酶水解尿素生成的 $\text{NH}_3\text{-N}$, 在强碱性介质中能够与次氯酸钠和苯酚反应, 生成水溶性蓝色染料靛酚蓝, 产物在 630 nm 处具有特征吸收峰, 通过吸光值的变化即可表征土壤脲酶的活性。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	液体 5 mL×1 瓶 (自备试剂)	4°C避光保存	甲苯 (C_7H_8 , MW=92.14, CAS:108-88-3)
试剂二	粉剂×2 瓶	4°C保存	使用前每瓶加入 10 mL 蒸馏水充分溶解 (现用现配, 未使用试剂及时置于 4°C保存)
试剂三	液体 50 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂四	A 液	液体 2 mL×1 瓶	使用前将 A 液加入 B 液中充分混匀 (或按比例 A:B=1:4 现用现配, 4°C可保存一周)
	B 液	液体 8 mL×1 瓶	
试剂五	液体 1.5 mL×1 瓶	4°C避光保存	使用前加入 10 mL 蒸馏水充分混匀
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C保存	1 mg/mL 氮标准液
标准稀释液的制备 (现用现配): 使用前将 1 mg/mL 氮标准液使用蒸馏水稀释至 6.0、5.0、4.0、2.0、1.0、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 即为标准稀释液。			

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	1000	100	100	100	4.0	2.0	1.0
标准液体积 (μL)	100	60	50	40	500	500	500
蒸馏水体积 (μL)	900	940	950	960	500	500	500
稀释后浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	100	6.0	5.0	4.0	2.0	1.0	0.5

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂: 可见分光光度计、1 mL 玻璃比色皿 (光径 10 mm、狭缝 3 mm、体积 1.05 mL)、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱、烘箱、30-50 目筛、甲苯和蒸馏水。

1. 土壤样本预处理

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干, 过 30-50 目筛。

2. 测定步骤

① 分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长至 630 nm, 蒸馏水调零。

② 在离心管中依次加入下列试剂 (可根据预实验结果适当调整样本量和上清液稀释倍数):

试剂	测定管 (μL)	无基质管 (μL)	无土样管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
风干土样 (mg)	100	100	-	-	-
试剂一	50	50	50	-	-
充分振荡混匀, 室温静置 15 min					
试剂二	250	-	250	-	-
蒸馏水	-	250	-	-	-
试剂三	500	500	500	-	-
充分混匀, 37°C 准确反应 24 h, 10000 g 常温离心 10 min, 取上清液; 将上清液使用蒸馏水稀释 10 倍 (0.1 mL 上清液+0.9 mL 蒸馏水)					
上清稀释液	400	400	400	-	-
标准稀释液	-	-	-	400	-
蒸馏水	-	-	-	-	400
试剂四	100	100	100	100	100
试剂五	100	100	100	100	100
充分混匀, 室温显色 20 min					
蒸馏水	400	400	400	400	400

吸光值测定: 将反应液置于 1 mL 玻璃比色皿中, 测定 630 nm 处吸光值, 记为 A 测定、A 无基质、A 无土、A 标准和 A 空白, 计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{无基质}} - A_{\text{无土}}$, $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$;

注: 每个样品均需设一个无基质管, 无土样管 (特别说明见注意事项) 和空白管只需测 1-2 次。

标准曲线的建立: 以 6.0、5.0、4.0、2.0、1.0、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 为横坐标 (x), 对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标 (y) 绘制标准曲线, 得到线性回归方程 $y = kx + b$, 将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中计算 x ($\mu\text{g/mL}$)。

3.土壤脲酶 (S-UE) 活性计算

单位定义：每天每 g 土样生成 1 μg $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{S-UE (U/g)} = \frac{x \times V_{\text{反总}} \times D}{W \times T} = \frac{8 \times x}{W}$$

注释： V 反总：培养体系总体积，0.8 mL；D：稀释倍数，上述体系中稀释倍数为 10；W：土壤样本质量，g；T：反应时间，24 h=1 d。

四、注意事项

- ①若A测定或 ΔA 测定超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议适当扩大上清液稀释倍数后再进行测定；低于最低值建议适当增加样本量或延长酶促反应时间后再进行测定，计算时相应修改；
- ②显色完成后应在1 h内完成测定，测定管颜色应为蓝色（与标准管颜色一致），若显色为黄色或绿色，则表明 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度过高，减少样本量或扩大上清液稀释倍数后再进行测定，计算时相应修改；
- ③无土样管为基质自分解对照管，测定管上清液稀释倍数不变则无土样管只需测定1-2次，若改变上清液稀释倍数则需要重新测定无土样管1-2次（稀释倍数一致）；
- ④为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取2-3个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liangong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

