

Soil Urease Assay Kit (S-UE)

土壤脲酶测定试剂盒说明书

货号:BN72544 | 方法:微板法 | 规格:96 样

一、产品简介:

土壤中的脲酶主要来源于微生物和植物,它仅能水解土壤中的尿素,最终产物是氨和碳酸。土壤脲酶活性与土壤的微生物数量、有机物质含量、全氮和速效氮含量呈正相关。常用土壤脲酶活性表征土壤的氮素状况。本试剂盒采用靛酚蓝比色法:即脲酶水解尿素产生 $\text{NH}_3\text{-N}$,其在强碱性介质中与次氯酸盐和苯酚反应,生成水溶性染料靛酚蓝,该物质在578nm有最大光吸收,其深浅与溶液中的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量呈正比,进而得出土壤脲酶活力大小。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉剂 mg×1 瓶	4℃保存	临用前加入 22mL 蒸馏水,充分溶解备用,用不完的试剂仍 4℃保存;
试剂二	液体 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 12mL×1 瓶	4℃保存	避光保存。
试剂四	液体 6mL×1 瓶	4℃保存	
试剂五	A: 液体 3.5mL×4 瓶 B: 液体 μL ×1 支	4℃保存	临用前取 30 μL 的 B 液进一瓶 A 液中,混匀后作为试剂五使用。混匀后的试剂五一周内用完。
标准品	液体 1 mL×1 支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、离心机、可调式移液器、**甲苯**和蒸馏水。

四、土壤脲酶(S-UE)活性测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本的制备:

取新鲜土样风干或者 37 度烘箱风干,先粗研磨,过 40 目筛网,备用。

【注】:土壤风干,可减少土壤中水分对于实验的干扰;

2、上机检测:

① 培养:取 EP 管依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
土样(g)	0.1	0.1
甲苯	40	40
振荡混匀,室温放置 15min		
试剂一	200	
试剂二	400	600
混匀,放入 37℃水浴锅或恒温培养箱中孵育 24h		

蒸馏水 (37°C)	360	360
混匀, 12000rpm, 25°C离心 10min, 取上清液。		

② 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 578nm。

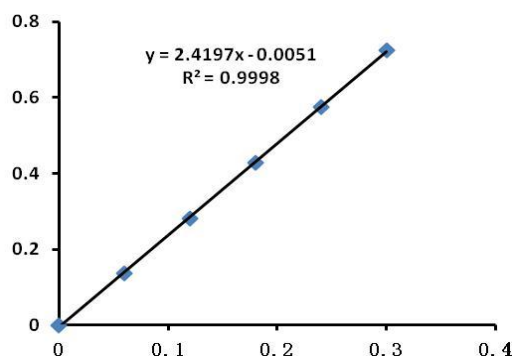
③ 显色反应: 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	15	15
蒸馏水	45	45
试剂三	60	60
试剂四	30	30
试剂五	60	60
混匀, 37°C放置 20min 后, 于 578nm 读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;
针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算:

1、标准曲线: $y = 2.4197x - 0.0051$; x 为标准品质量 (μg), y 为吸光值 ΔA 。



标准曲线示意图

说明: 标准曲线由标准品测定获得, 具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、土壤脲酶活性定义: 每天每克土样中产生 1μg 的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\begin{aligned} \text{土壤脲酶活力}(\mu\text{g/d/g 土样}) &= (\Delta A + 0.0051) \div 2.4197 \times (V \div V1) \div W \div T \times D \\ &= 27.6 \times (\Delta A + 0.0051) \div W \times D \end{aligned}$$

V---反应总体积, 1000μL;

V1---显色反应中上清液体积, 15μL;

T---反应时间, 24h=1d;

W---土壤样本实际取样质量, g;

D--稀释倍数, 未稀释即为 1。