

## 土壤脲酶（S-UE）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

**注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。**

货号：AC10089

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，有疑问请及时联系本公司工作人员。**

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8°C保存
试剂三	液体 65 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四 A 液	液体 2 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂四 B 液	液体 8 mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂五	液体 0.5 mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8°C保存

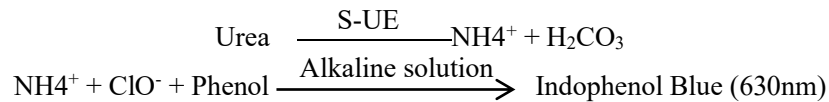
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯，大约需要10mL，常温保存；试剂盒内提供一个30mL棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称；
- 2、试剂二：临用前取 1 瓶加入 10 mL 蒸馏水，充分溶解待用，用不完的试剂 2-8°C保存 4 周；
- 3、试剂四：临用前将 A 液和 B 液按体积比 1：4 混合待用；用多少配多少；
- 4、试剂五：液体置于试剂瓶内 EP 管中，使用前需先离心。临用前加入 9.5 mL 蒸馏水，混匀，待用；用不完的试剂 2-8°C保存两周；
- 5、标准品：1 mg/mL 氮标准液。

### 产品说明：

S-UE 能够水解尿素，产生氨和碳酸。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。土壤脲酶活性反应了土壤的氮素状况。

本法以尿素为基质，利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的  $\text{NH}_3\text{-N}$ ，生成的蓝色靛酚和氨的浓度成正比。



**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、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、30-50 目筛、研钵、冰、甲苯（不允许快递）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）

新鲜土样自然风干或 37°C 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 630nm，蒸馏水调零。

2、土样酶促反应

试剂名称	测定管	对照管
风干土样 (g)	0.25	0.25
试剂一 (μL)	125	125
振荡混匀，使土样全部湿润，室温放置 15min		
试剂二 (μL)	625	-
蒸馏水 (μL)	-	625
试剂三 (μL)	1250	1250
混匀，放入 37°C 水浴或恒温培养箱培养 24 h 后，10000g 常温离心 10 min，取上清液。		

3、将培养结束的上清液稀释 10 倍（取 0.1mL 上清液，加入 0.9mL 蒸馏水）进行步骤 5，若最终计算得到的  $\Delta A$  仍大于 1 则继续稀释。

4、标准品的准备：吸取适量的标准溶液，用蒸馏水稀释至 8、6、4、2、1、0.5、0.25、0（空白管） $\mu\text{g/mL}$ 。可参考下表。

序号	稀释前浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	标准液体积 ( $\mu\text{L}$ )	蒸馏水体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释后浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	1000	20	1980	10
2	10	800	200	8
3	10	600	400	6
4	10	400	600	4
5	4	500	500	2
6	2	500	500	1
7	1	500	500	0.5
8	0.5	500	500	0.25
9	-	0	500	0

备注：实验中每个标准管需 360 $\mu\text{L}$  标准液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

5、测氨量

试剂名称	测定管	对照管	标准管
稀释后的上清液或标准品 ( $\mu\text{L}$ )	360	360	360
试剂四 ( $\mu\text{L}$ )	120	120	120
试剂五 ( $\mu\text{L}$ )	120	120	120
充分混匀，室温放置 20min			
蒸馏水 ( $\mu\text{L}$ )	400	400	400

充分混匀，630nm处蒸馏水调零，测吸光值A，分别记为A测定管、A对照管、A标准管、A空白管。计算 $\Delta A$ 测定=A测定管-A对照管， $\Delta A$ 标准=A标准管-A空白管，每个测定管设一个对照管。标准曲线和空白管只需测1-2次。

### 三、S-UE活力的计算

#### 1、标曲绘制

标准曲线的建立：根据标准管的浓度（x， $\mu\text{g/mL}$ ）和吸光度 $\Delta A$ 标准（y， $\Delta A$ 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将 $\Delta A$ 测定（y， $\Delta A$ 测定）带入公式计算样本浓度（x， $\mu\text{g/mL}$ ）。

#### 2、S-UE活力计算

单位的定义：每天每g土样中产生 $1\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

S-UE活力（U/g土样）= $x \times 10 \times V \text{反总} \div W \div T = 80 \times x$

10：稀释倍数；T：反应时间，1d；V反总：反应体系总体积：2mL；W：样本质量，0.25g。

#### 参考文献：

[1] Kandeler E, Gerber H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium[J]. Biology and fertility of Soils, 1988, 6(1): 68-72.

[2] Witte C P, Medina-Escobar N. In-gel detection of urease with nitroblue tetrazolium and quantification of the enzyme from different crop plants using the indophenol reaction[J]. Analytical biochemistry, 2001, 290(1): 102-107.

[3] Guo H, Yao J, Cai M, et al. Effects of petroleum contamination on soil microbial numbers, metabolic activity and urease activity[J]. Chemosphere, 2012, 87(11): 1273-1280.

#### 相关系列产品：

AC10121/AC10122 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒

AC10087/AC10088 土壤多酚氧化酶（S-PPO）活性检测试剂盒

AC10625/AC10626 土壤中性转化酶（S-NI）活性检测试剂盒