

土壤脲酶 (Solid-Urease, S-UE) 测定试剂盒说明书

(货号: ADS-F-TR001-48 分光法 48 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 1 瓶	4°C保存	临用前加入 12mL 蒸馏水, 充分溶解备用, 用不完的试剂仍 4°C保存;
试剂二	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	液体 26mL×1 瓶	4°C保存	避光保存。
试剂四	液体 14mL×1 瓶	4°C保存	
试剂五	A: 液体 7mL×4 瓶 B: 液体 1 支	4°C保存	临用前取 60 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°C保存	若重新做标曲, 则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、离心机、水浴锅、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°C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 可见分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 578nm, 蒸馏水调零。

③ 显色反应: 在 EP 管中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
上清液	60	60
蒸馏水	180	180
试剂三	240	240
试剂四	120	120
试剂五	240	240

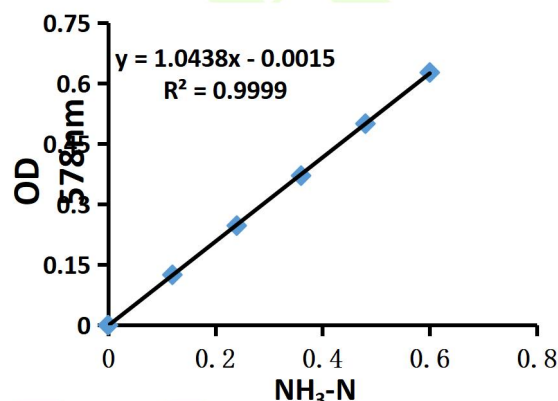
充分混匀，37°C放置 20min 后，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 578nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ （每个样本做一个自身对照）。

【注】1. 试剂三和四和五需分开加，不能事先混匀。

- 若 ΔA 值较小，可增加取样质量 W（如 0.2g 或更多）或在显色反应阶段增加上清液量 V1（如增至 120μL，则蒸馏水体积相应减少）；则改变后的 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。
- 若 A 测定的值大于 1.8，可在显色反应阶段减少上清液量 V1（如减至 30μL，则蒸馏水体积相应增加）；则改变后的上清液体积 V1 需代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程为 $y = 1.0438x - 0.0015$ ；x 为标准品质量（μg），y 为吸光值 ΔA 。



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。

$$\text{土壤脲酶活力}(\mu\text{g/d/g 土样}) = (\Delta A + 0.0015) \div 1.0438 \times (V \div V1) \div W \div T = 16 \times (\Delta A + 0.0015) \div W$$

V---反应总体积：1000μL；

V1---显色反应中上清液体积：60μL；

T---反应时间，24h=1d；

W---土壤样本实际取样质量，g。

附：标准曲线制作过程：

- 把标准品母液（1mg/mL），用蒸馏水稀释成以下浓度梯度的标准品：0,2,4,6,8,10. μg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 在显色反应阶段，按照测定管加样表操作，依据结果即可制作标准曲线。