

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：BC0120

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 10 mL×1 瓶（自备）	2-8℃保存
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 65 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四 A 液	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四 B 液	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 0.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

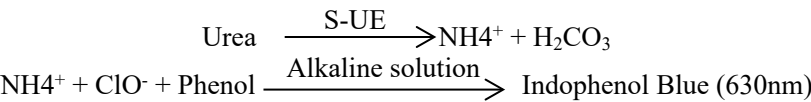
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯；
- 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℃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℃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 NH₃-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℃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、培养

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℃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），若最终计算得到的 ΔA 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（ μL ）	蒸馏水体积（ μL ）	稀释后浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）
1	1000	15	1475	10
2	10	880	220	8
3	8	720	240	6
4	6	560	280	4
5	4	420	420	2
6	2	420	420	1
7	1	420	420	0.5
8	0.5	420	420	0.25
9	0.25	0	420	0

备注：实验中每个标准管需 360 μL 标准液。

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（ μL ）	360	360	360
试剂四（ μL ）	120	120	120
试剂五（ μL ）	120	120	120
充分混匀，室温放置 20min			
蒸馏水（ μL ）	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 ΔA 测定=A 测定管-A 对照管， ΔA 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， $\mu\text{mol/L}$ ）和吸光度 ΔA 标准（y， ΔA 标准），建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定（y， ΔA 测定）带入公式计算样本浓度（x， $\mu\text{mol/L}$ ）。

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。

相关发表文献：

[1] Hou Q, Wang W, Yang Y, et al. Rhizosphere microbial diversity and community dynamics during potato cultivation[J]. European Journal of Soil Biology, 2020, 98: 103176.

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：

BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶（S-AKP/ALP）活性检测试剂盒

BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶（S-PPO）活性检测试剂盒

BC4040/BC4045 土壤中性转化酶（S-NI）活性检测试剂盒

