

土壤脲酶（Solid-Urease, S-UE）测定试剂盒说明书

（货号：G0301F 分光法 24 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°C保存 | 临用前加入 6mL 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 30mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂三 | 液体 13mL×1 瓶 | 4°C保存 | 避光保存。 |
| 试剂四 | 液体 7mL×1 瓶 | 4°C保存 | |
| 试剂五 | A: 液体 7mL×2 瓶 B: 液体 μL ×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 |

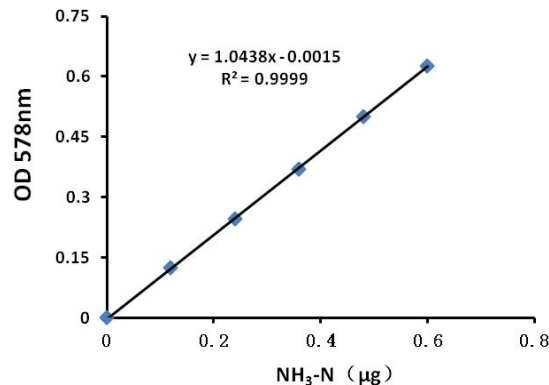
充分混匀，37°C放置 20min 后，全部液体转移至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 578nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ （每个样本做一个自身对照）。

【注】1. 试剂三和四和五需分开加，不能事先混匀。

2. 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。
3. 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 NH₃-N 定义为一个酶活力单位。
土壤脲酶活力(μg/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：

- 1 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。
- 2 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。