

## 土壤脲酶（Solid-Urease, S-UE）测定试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义：

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。

### 测定原理：

利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的  $\text{NH}_3\text{-N}$ 。

### 需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

### 试剂的组成和配制：

试剂一：甲苯 2mL×1 瓶，4℃ 保存；（自备）

试剂二：粉剂×1 瓶，临用前加入 9mL 蒸馏水，充分溶解待用，4℃ 保存；用不完的试剂 4℃ 保存；

试剂三：液体 22mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂四 A 液：液体×1 支，4℃ 保存；试剂四 B 液：液体×1 瓶，4℃ 保存；临用前将 A 液倒入 B 液中混合，待用；用不完的试剂 4℃ 保存一周；

试剂五：液体 2mL×1 瓶，4℃ 保存；

### 样品处理：

新鲜土样自然风干或 37 度烘箱风干，过 30~50 目筛。

### 测定步骤：

#### 1、培养

	测定管	对照管
风干土样(g)	0.05	0.05
试剂一 (μL)	20	20

振荡混匀，室温放置 15min

试剂二 (μL)	90	
蒸馏水 (μL)		90
试剂三 (μL)	190	190

混匀，放入 37℃ 水浴培养 24h 后，10000g 25℃ 离心 10min，取上清液。

2、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）。

3、测氨量（在微量石英比色皿或 96 孔板中加入下列试剂）

	测定管	对照管
稀释后的上清液 (μL)	80	80
试剂四 (μL)	15	15
试剂五 (μL)	15	15

充分混匀，室温放置 20min

蒸馏水 (μL)	90	90
----------	----	----

混匀，于 578nm 处，蒸馏水调零，读吸光值 A，计算  $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

### 脲酶活力计算

#### a.用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.0915x + 0.0373$ ;  $x$  为标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ),  $y$  为吸光值  $A$ 。

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

脲酶活力 ( $\mu\text{g/d/g}$  土样)  $= (\Delta A - 0.0373) \div 0.0915 \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 656 \times (\Delta A - 0.0373)$

10: 稀释倍数;  $T$ : 反应时间,  $1\text{d}$ ;  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积:  $0.3\text{mL}$ ;  $W$ : 样本质量,  $0.05\text{g}$ 。

#### b.用 96 孔板测定的计算公式如下

标准条件下测定的回归方程为  $y = 0.04575x + 0.0373$ ;  $x$  为标准品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ),  $y$  为吸光值  $A$ 。

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

脲酶活力 ( $\mu\text{g/d/g}$  土样)  $= (\Delta A - 0.0373) \div 0.04575 \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 1312 \times (\Delta A - 0.0373)$

10: 稀释倍数;  $T$ : 反应时间,  $1\text{d}$ ;  $V_{\text{反总}}$ : 反应体系总体积:  $0.3\text{mL}$ ;  $W$ : 样本质量,  $0.05\text{g}$ 。