

土壤脲酶（Solid-Urease, S-UE）测定试剂盒说明书

分光光度法 50 管/24 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、水浴锅、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、冰、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：甲苯 10mL×1 瓶，4℃ 保存；（自备）

试剂二：粉剂×1 瓶，临用前加入 20mL 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 65mL×1 瓶，4℃ 保存；

试剂四 A 液：液体 1mL×1 瓶，4℃ 保存；试剂四 B 液：液体 4mL×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 5mL×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)	0.25	0.25
试剂一 (μL)	125	125

振荡混匀，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

	测定管	对照管
稀释后的上清液 (μL)	400	400
试剂四 (μL)	80	80
试剂五 (μL)	60	60

充分混匀，室温放置 20min

蒸馏水 (μL)	460	460
----------	-----	-----

混匀，578nm 处蒸馏水调零，测 A 值， $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ 。每个测定管设一个对照管。

脲酶活力计算

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。
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。

脲酶活力 ($\mu\text{g/d/g}$ 土样) = $(\Delta A - 0.0373) \div 0.0915 \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 874 \times (\Delta A - 0.0373)$

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