

土壤脲酶 (Solid-Urease, S-UE) 测定试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

注 意：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 (μg/mL)，y 为吸光值 A。

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1μg NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

脲酶活力 (μg/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，1d； V 反总：反应体系总体积：0.3mL；W：样本质量，0.05g。

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 (μg/mL)，y 为吸光值 A。

单位的定义：每天每 g 土样中产生 1μg NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

脲酶活力 (μg/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，1d； V 反总：反应体系总体积：0.3mL；W：样本质量，0.05g。