

上海茁彩生物科技有限公司
ZCIBIO Technology Co., Ltd



生化检测原理示意图

Cat. NO: ZC-S0543

Size: 100T/48S

土壤脲酶 (UE) 检测试剂盒说明书

微量法

*正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

一、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。

二、测定原理:

土壤脲酶活性反应了土壤的氮素状况。利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 。

三、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、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰、甲苯（不允许快递）和蒸馏水。

四、试剂的组成和配置:

种类	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
试剂一	甲苯 2mL×1 瓶	4℃保存	自备
试剂二	粉剂×1 瓶	4℃保存	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 19mL×1 瓶	4℃保存	—
试剂四 A 液	液体 0.4mL×1 支	4℃保存	—
试剂四 B 液	液体 1.6mL×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	—
标准品	液体 1mL×1 支	4℃保存	1mg/mL 氮标准液。

五、操作步骤：

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，使土样全部湿润，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 常温离心 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）。若最终计算得到的 ΔA 仍大于 0.5 继续稀释。

3) 标准品的准备：吸取适量的标准溶液，稀释至 10、8、6、4、2、1、0.5、0 μg/mL。

4) 测氮量（在微量玻璃比色皿或 96 孔板中加入下列试剂）

	测定管	对照管	标准管
稀释后的上清液 (μL) / 标准品	80	80	80
试剂四 (μL)	15	15	15
试剂五 (μL)	15	15	15
充分混匀，室温放置 20min			
蒸馏水 (μL)	90	90	90

混匀，于 630nm 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。标准曲线的建立：根据标准管的浓度 (y) 和吸光度 (x, 减去浓度为 0 的空白管)，做标准曲线。

六、脲酶活力计算

根据标准曲线，将 ΔA 带入公式 (x) 计算测定中样品的浓度 ($\mu\text{g/mL}$) y 值。单位的定义：
每天每 g 土样中产生 $1 \mu\text{gNH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{脲酶活力 (U/g 土样)} = y \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 60 \times y$$

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