

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-S0826

Size: 50T/24S

土壤脲酶 (UE) 检测试剂盒说明书

可见分光光度法

*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。土壤脲酶活性反应了土壤的氮素状况。

二、测定原理:

本法以尿素为基质, 利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$, 生成的蓝色靛酚和氨的浓度成正比。

三、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、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 10mL × 1 瓶	4°C 保存	自备
试剂二	粉剂 × 1 瓶	4°C 保存	临用前加入 20mL 蒸馏水, 充分溶解待用
试剂三	液体 65mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂四 A 液	液体 2mL × 1 瓶	4°C 保存	
试剂四 B 液	液体 8mL × 1 瓶	4°C 保存	临用前将 A 液倒入 B 液中混合, 待用; 未用完的液体 4°C 保存一周。
试剂五	液体 10mL × 1 瓶	4°C 保存	
标准品	液体 1mL × 1 支	4°C 保存	1mg/mL 氮标准液

五、操作步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 630nm，蒸馏水调零。

2. 培养

试剂名称	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，使土样全部湿润，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°C 水浴培养 24h 后，10000g 常温离心 10min，取上清液。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）若吸光值仍大于 1.5 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

	测定管	对照管	标准管
稀释后的上清液或标准液	400	400	400
试剂四 (μL)	80	80	80
试剂五 (μL)	60	60	60
充分混匀，室温放置 20min			
蒸馏水 (μL)	460	460	460

混匀，630nm 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。

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、脲酶活力的计算：

根据标准曲线，将 $\Delta A(x)$ 带入公式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 $1\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 定义为一个酶活力单位。

$$\text{脲酶活力 (U/g 土样)} = y \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 80 \times y$$

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