

**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 NH<sub>3</sub>-N 定义为一个酶活力单位。

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

10: 稀释倍数; T: 反应时间, 1d; V 反应: 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 NH<sub>3</sub>-N 定义为一个酶活力单位。

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

10: 稀释倍数; T: 反应时间, 1d; V 反应: 反应体系总体积: 0.3mL; W: 样本质量, 0.05g。