

土壤脲酶(S-UE)检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
SMHA1-C24	土壤脲酶(S-UE)检测试剂盒	24T	常量法
SMHA1-C48		48T	

一、测定意义

大多数细菌、真菌和高等植物均有脲酶。它是一种酰胺酶，能酶促有机质分子中的肽键水解。土壤的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。人们常用土壤的脲酶活性表征土壤的氮素状况。

二、测定原理

以尿素为基质，经土壤脲酶酶促基质水解生成氨，氨与苯酚—次氯酸钠在常温条件下作用生成蓝色靛酚，颜色深度与生成氨的量成正比，用比色法测定氨的量来表示脲酶活性。

三、试剂组成

试剂名称	试剂装量 (24T)	试剂装量 (48T)	保存条件
甲苯	自备	自备	常温
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃ 保存
试剂一应用液配制：用时每瓶粉剂加入 15mL 蒸馏水，充分溶解			
试剂二	60mL×1 瓶	120mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三 A 液	2mL×1 瓶	4mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三 B 液	2mL×1 瓶	4mL×1 瓶	2-8℃ 保存
试剂三应用液的配制：把 A 液:B 液:蒸馏水按 1:1:3 的比例混合，现用现配			
试剂四	0.5mL×1 支	0.5mL×2 支	2-8℃ 保存
试剂四应用液的配制：临用前每支加入 5mL 蒸馏水，混匀， 2-8℃ 保存			
氮标准溶液 (1mg/ml)	1.5mL×1 支	1.5mL×1 支	2-8℃ 保存

四、操作步骤

1、样本前处理

新鲜土样自然风干或者 37℃ 烘箱风干，过 30-50 目筛。

2、操作步骤

① 培养反应：

	测定管	对照管	基质管
土样 (g)	0.1	0.1	-
甲苯 (μL)	50	50	50
震荡混匀, 使土样全部湿润, 室温静置 15min			
试剂一应用液 (μL)	500	-	500
蒸馏水 (μL)	-	500	-
试剂二 (μL)	1000	1000	1000

混匀, 37℃孵育 24h 后, 混匀, 10000 转/min 常温离心 10min, 取上清液备用。

② 将上清液用蒸馏水稀释 (通常 5-20 倍稀释) 后, 待测

③ 显色反应:

	测定管	对照管	标准管	基质管
上清液 (μL)	200	200	-	200
不同浓度的氮标准液 (μL)	-	-	200	-
试剂三应用液 (μL)	80	80	80	80
试剂四应用液 (μL)	60	60	60	60
混匀, 室温静置 20min				
蒸馏水 (μL)	700	700	700	700

混匀, 波长 630nm, 1cm 光径, 蒸馏水调零, 测定各管吸光度值。

注: 每个待测样本需设定一个测定管和一个对照管;

五、单位定义与计算

单位定义: 每天每克风干土壤中产生 1μg NH₃-N 为一个酶活力单位

计算公式: 根据标准曲线, 将吸光度值带入标曲计算出上清液中浓度 Y (μg/mL)

$$S-UE(U/g \text{ 土样}) = (Y_{\text{测定管}} - Y_{\text{对照管}} - Y_{\text{基质管}}) \times V_{\text{反应}} \div W \div T$$

T: 反应时间, 1d;

V_{反应}: 反应体系总体积, 1.5mL;

W: 样本质量, 0.1g。

计算举例: 取土样 0.1g 实验, 测定管上清液 10 倍稀释, 对照管和基质管未稀释, 测得测定管吸光度为 0.365, 对照管吸光度为 0.163, 基质管吸光度值为 0.145, 按计算公式计算得:

根据标准曲线, 得到 $Y_{\text{测定管}} = 60.79 \mu\text{g/mL}$, $Y_{\text{对照管}} = 2.67 \mu\text{g/mL}$, $Y_{\text{基质管}} = 2.36 \mu\text{g/mL}$

$$S-UE(U/g \text{ 土样}) = (60.79 - 2.67 - 2.36) \times 1.5 \div 0.1 \div 1 = 836.4 (U/g)$$

六、注意事项

- 1、蒸馏水要求无氨。
- 2、比色时, 溶液呈现靛酚的蓝色, 在 1h 内保持稳定。
- 3、不同土壤样本的脲酶差异较大, 先做预实验确认样本活力。
- 4、标准曲线可用于参考, 不同实验条件下, 测定结果趋势不变, 但数据值可能会存在一定的差异性。
- 5、因需要使用甲苯, 故尽量在通风条件下进行;
- 6、若是称重的时候不能保证测定管和对照管重量固定, 可将计算公式分解后带入计算。

七、相关产品

- 1、土壤酸性磷酸酶（S-ACP）检测试剂盒
- 2、土壤多酚氧化酶（S-PPO）检测试剂盒

九、公司介绍

陌凡生物科技有限公司是一家专业从事转基因检测、食品安全以及动植物疫病检测为核心业务的生物科技公司。能够为客户提供动植物疫病检测试剂、小分子抗原抗体、植物激素、植物抗体、重组蛋白等优质产品。自主研发了涵盖分子生物学、细胞生物学、免疫学、生物医学等领域的各种试剂盒。产品覆盖面广，品质可靠。

附录 I：标准曲线的制备

1、前处理

将 1mg/mL 的氮标准液用蒸馏水稀释成 0、1、2、4、6、8、10 μ g/mL 氮标准液进行标准曲线的制备。

2、操作表

氮标准液浓度 (μ g/mL)	0	1	2	4	6	8	10
不同浓度氮标准液 (μ L)	200	200	200	200	200	200	200
试剂三应用液 (μ L)	80	80	80	80	80	80	80
试剂四应用液 (μ L)	60	60	60	60	60	60	60
混匀，室温静置 20min							
蒸馏水 (μ L)	700	700	700	700	700	700	700

混匀，波长 630 nm，1cm 光径，蒸馏水调零，测定各管吸光度值。

3、测定结果

氮标准浓度 (μ g/mL)	测定 OD
0	0.001
1	0.065
2	0.123
4	0.246
6	0.365
8	0.477
10	0.594

脲酶标准曲线

$$y = 16.89x - 0.086$$
$$R^2 = 0.9998$$

