

## 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-M48	土壤脲酶(S-UE)检测试剂盒	48T	微量法
SMHA1-M96		96T	

### 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，氨与苯酚一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 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
甲苯	自备	自备	
试剂一	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	4℃ 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	4℃ 保存
试剂三 A 液	2mL×1 瓶	4mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂三 B 液	2mL×1 瓶	4mL×1 瓶	4℃ 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	4℃ 保存
试剂四应用液的配制：临用前每支加入 5mL 蒸馏水，混匀， 4℃ 保存			
氮标准溶液 (1mg/ml)	1.5mL×1 支	1.5mL×1 支	4℃ 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)	0.05	0.05	-
甲苯 (μL)	25	25	25
震荡混匀, 使土样全部湿润, 室温静置 15min			
试剂一应用液 (μL)	250	-	250
蒸馏水 (μL)	-	250	-
试剂二 (μL)	500	500	500

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)	30	30	-	30
不同浓度的氮标准液 (μL)	-	-	30	-
试剂三应用液 (μL)	40	40	40	40
试剂四应用液 (μL)	30	30	30	30
混匀, 室温静置 20min				
蒸馏水 (μL)	100	100	100	100

混匀, 波长 630nm, 酶标仪测定各管吸光度值。

**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 NH<sub>3</sub>-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)

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

**T:** 反应时间, 1d;

**V<sub>反应</sub>:** 反应体系总体积, 0.75mL;

**W:** 样本质量, 0.05g。

## 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、因需要使用甲苯, 故尽量在通风条件下进行;
- 5、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、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、20 $\mu$ 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 ( $\mu$ g/mL)	0	1	2	4	6	8	10	20
不同浓度氮标准液 ( $\mu$ L)	30	30	30	30	30	30	30	30
试剂三应用液 ( $\mu$ L)	40	40	40	40	40	40	40	40
试剂四应用液 ( $\mu$ L)	30	30	30	30	30	30	30	30
混匀，室温静置 20min								
蒸馏水 ( $\mu$ L)	100	100	100	100	100	100	100	100

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 ( $\mu$ g/mL)	测定 Abs	绝对 Abs
0	0.0148	0.0000
1	0.0353	0.0205
2	0.0595	0.0447
4	0.1025	0.0877
6	0.1582	0.1434
8	0.1943	0.1795
10	0.2344	0.2196
20	0.4712	0.4564

