

土壤脲酶 (S-UE) 活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: BC0120

规格: 50T/24S

产品组成: 使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	液体 10 mL×1 瓶 (自备)	4°C保存
试剂二	粉剂×1 瓶	4°C保存
试剂三	液体 65 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四 A 液	液体 2 mL×1 瓶	4°C保存
试剂四 B 液	液体 8 mL×1 瓶	4°C保存
试剂五	液体 0.5 mL×1 瓶	4°C保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4°C保存

溶液的配制:

- 1、试剂一: 自备甲苯;
- 2、试剂二: 临用前加入 20 mL 蒸馏水, 充分溶解待用, 4°C保存;
- 3、试剂四: 临用前将 A 液和 B 液按体积比 1: 4 混合待用; 用多少配多少;
- 4、试剂五: 液体置于试剂瓶内 EP 管中。临用前加入 9.5 mL 蒸馏水, 混匀, 待用; 用不完的试剂 4°C保存;
- 5、标准品: 1 mg/mL 氮标准液。

产品说明:

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。

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。

注意: 实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

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、30-50 目筛、研钵、冰、甲苯 (不允许快递) 和蒸馏水。

操作步骤:

一、样本处理 (可适当调整待测样本量, 具体比例可以参考文献)

新鲜土样自然风干或 37°C 烘箱风干, 过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 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 24 h 后, 10000g 常温离心 10 min, 取上清液。		

3、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 继续稀释。

4、标准品的准备: 吸取适量的标准溶液, 用蒸馏水稀释至 8、6、4、2、1、0.5、0.25、0μg/mL。

5、测氨量

	测定管	对照管	标准管
稀释后的上清液或标准品 (μL)	360	360	360
试剂四 (μL)	120	120	120
试剂五 (μL)	120	120	120
充分混匀, 室温放置 20min			
蒸馏水 (μL)	400	400	400

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 (x) 和吸光度 (y, 减去浓度为 0 的空白管), 做标准曲线。

三、S-UE 活力的计算

根据标准曲线, 将 ΔA (y) 带入公式计算测定中样本的浓度 (μg/mL) x 值。

单位的定义: 每天每 g 土样中产生 1μg NH₃-N 定义为一个酶活力单位。

S-UE 活力 (U/g 土样) = $x \times 10 \times V_{\text{反总}} \div W \div T = 80 \times x$

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。

相关发表文献:

[1] Hou Q, Wang W, Yang Y, et al. Rhizosphere microbial diversity and community dynamics during potato cultivation[J]. European Journal of Soil Biology, 2020, 98: 103176.

参考文献:

[1] Kandeler E, Gerber H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium[J]. Biology and fertility of Soils, 1988, 6(1): 68-72.

[2] Witte C P, Medina-Escobar N. In-gel detection of urease with nitroblue tetrazolium and quantification of the enzyme from different crop plants using the indophenol reaction[J]. Analytical biochemistry, 2001, 290(1): 102-107.

[3] Guo H, Yao J, Cai M, et al. Effects of petroleum contamination on soil microbial numbers, metabolic activity and urease activity[J]. Chemosphere, 2012, 87(11): 1273-1280.