

土壤脲酶（S-UE）活性检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC0125

规格：100T/48S、200T/96S

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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	100T 规格	200T 规格	保存条件
试剂一	自备试剂	自备试剂	-
试剂二	粉剂×2 瓶	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 20 mL×1 瓶	液体 40 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四 A 液	液体 1 mL×1 支	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四 B 液	液体 4 mL×1 瓶	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 0.3 mL×1 瓶	液体 0.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

100T 溶液的配制：

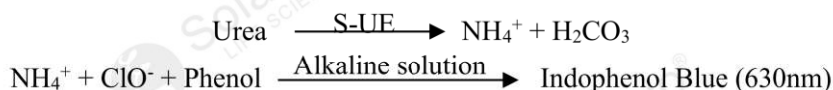
- 1、试剂一：自备甲苯，大约需要 2.5mL，常温保存；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称；
- 2、试剂二：临用前取 1 瓶加入 2.7 mL 蒸馏水，充分溶解待用，用不完的试剂 2-8℃保存 4 周；
- 3、试剂四：临用前将 A 液和 B 液按体积比 1：4 混合待用；用多少配多少；
- 4、试剂五：液体置于试剂瓶内 EP 管中，使用前需先离心。临用前加入 5.7 mL 蒸馏水，混匀，待用；用不完的试剂 2-8℃保存 2 周；
- 5、标准品：1 mg/mL 氮标准液。

200T 溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯，大约需要 5mL，常温保存；试剂盒内提供一个 30mL 棕色空瓶，仅做分装使用，请自行标注试剂名称；
- 2、试剂二：临用前取 1 瓶加入 5.7 mL 蒸馏水，充分溶解待用，用不完的试剂 2-8℃保存 4 周；
- 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，使用前需先离心。临用前加入 9.5 mL 蒸馏水，混匀，待用；用不完的试剂 2-8℃保存 4 周；
- 5、标准品：1 mg/mL 氮标准品。

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。利用靛酚蓝比色法测定脲酶水解尿素产生的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 。





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/酶标仪、水浴锅/恒温培养箱、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、30-50目筛、研钵、冰、甲苯（>98%，AR）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℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 630nm，分光光度计用蒸馏水调零。
- 2、标准品的准备：吸取适量的标准品，用蒸馏水稀释至 10、8、6、4、2、1、0.5、0（空白管） $\mu\text{g/mL}$ ，可参考下表。

序号	稀释前浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	标准品体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 ($\mu\text{g/mL}$)
1	1000	15	1485	10
2	10	400	100	8
3	10	300	200	6
4	10	200	300	4
5	4	250	250	2
6	2	250	250	1
7	1	250	250	0.5
8	-	0	250	0

备注：下述实验中每个标准管需 120 μL 标准品（注意不要在此步骤直接检测标准品吸光度）。

3、酶促反应

试剂名称	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，使土样全部湿润，室温放置 15min		
试剂二 (μL)	90	-
蒸馏水 (μL)	-	90
试剂三 (μL)	190	190
(1) 混匀，放入 37℃水浴或恒温培养箱培养 24h 后，10000g 常温离心 10min，取上清液。		
(2) 将酶促反应结束的上清液稀释 10 倍（取 0.1mL 上清液，加入 0.9mL 蒸馏水）。		
注：若最终计算得到的 ΔA 仍大于 1 则继续稀释， ΔA 过小可减少稀释倍数，注意修改计算公式。		

4、测氨量（在微量玻璃比色皿或 96 孔板中加入下列试剂）



试剂名称	测定管	对照管	标准管
稀释后的上清液 (μL)	120	120	-
标准品 (μL)	-	-	120
试剂四 (μL)	40	40	40
试剂五 (μL)	40	40	40

充分混匀，常温放置 20min。微量玻璃比色皿需要用蒸馏水调零，96 孔板不需要调零，于 630nm 处读取吸光值 A，分别记为 A 测定管、A 对照管、A 标准管、A 空白管。计算 ΔA 测定 = A 测定管 - A 对照管， ΔA 标准 = A 标准管 - A 空白管，每个测定管设一个对照管。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

三、S-UE活力计算

1、标曲绘制

标准曲线的建立：根据标准管的浓度 (x, μg/mL) 和吸光度 ΔA 标准 (y, ΔA 标准)，建立标准曲线。根据标准曲线，将 ΔA 测定 (y, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (x, μg/mL)。

2、S-UE活力计算

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) = $x \times 10 \times V \text{ 反总} \div W \div T = 60 \times x$

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

相关发表文献:

[1] Fazal A, Yang M, Wang X, Lu Y, Yao W, Luo F, Han M, Song Y, Cai J, Yin T, Niu K, Sun S, Qi J, Lu G, Wen Z, Yang Y. Discrepancies in rhizobacterial assembly caused by glyphosate application and herbicide-tolerant soybean Co-expressing GAT and EPSPS. J Hazard Mater. 2023 May 15; 450:131053. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.131053. Epub 2023 Feb 22. PMID: 36842198.

[2] Fazal A, Wen Z, Yang M, Wang C, Hao C, Lai X, Jie W, Yang L, He Z, Yang H, Cai J, Qi J, Lu G, Niu K, Sun S, Yang Y. Triple-transgenic soybean in conjunction with glyphosate drive patterns in the rhizosphere microbial community assembly. Environ Pollut. 2023 Oct 15; 335:122337. doi: 10.1016/j.envpol.2023.122337. PMID: 37562532.

[3] Yang M, Luo F, Song Y, Ma S, Ma Y, Fazal A, Yin T, Lu G, Sun S, Qi J, Wen Z, Li Y, Yang Y. The host niches of soybean rather than genetic modification or glyphosate application drive the assembly of root-associated microbial communities. Microb Biotechnol. 2022 Dec;15(12):2942-2957. doi: 10.1111/1751-7915.14164. Epub 2022 Nov 6. PMID: 36336802; PMCID: PMC9733649.

[4] Liu S, Sui Y, Dong B. Reinforcement of reclaimed sand by stimulating native microorganisms for biomineralization. Front Bioeng Biotechnol. 2022 Dec 22; 10:1050694. doi: 10.3389/fbioe.2022.1050694. PMID: 36619391; PMCID: PMC9813752.

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.

相关系列产品:

BC0280/BC0285 土壤碱性磷酸酶 (S-AKP/ALP) 活性检测试剂盒

BC0110/BC0115 土壤多酚氧化酶 (S-PPO) 活性检测试剂盒

