

土壤脲酶（S-UE）活性检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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：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，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	自备试剂	-
试剂二	粉剂×2 瓶	2-8℃保存
试剂三	液体 65 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四 A 液	液体 2 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂四 B 液	液体 8 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂五	液体 0.5 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	2-8℃保存

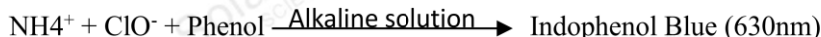
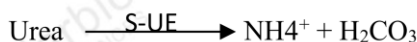
溶液的配制：

- 1、试剂一：自备甲苯，大约需要 10mL，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 10 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 2 周；
- 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/恒温培养箱、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、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、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 630nm，蒸馏水调零。
- 2、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、0（空白管） $\mu\text{g/mL}$ 。可参考下表。

序号	稀释前浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	标准液体积 (μL)	蒸馏水体积 (μL)	稀释后浓度 ($\mu\text{g/mL}$)
1	1000	20	1980	10
2	10	800	200	8
3	10	600	400	6
4	10	400	600	4
5	4	500	500	2
6	2	500	500	1
7	1	500	500	0.5
8	0.5	500	500	0.25
9	-	0	500	0

备注：下述实验中每个标准管需 360 μL 标准液（注意不要在此步骤直接检测标准溶液吸光度）。

3、土样酶促反应

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 $^{\circ}\text{C}$ 水浴或恒温培养箱培养 24 h 后，10000g 常温离心 10 min，取上清液。 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）进行步骤 4，若最终计算得到的 ΔA 仍大于 1 则继续稀释。		

4、测氨量

试剂名称	测定管	对照管	标准管
稀释后的上清液或标准品	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

充分混匀，630nm 处蒸馏水调零，测吸光值 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。（注意：试剂四和试剂五务必按照顺序依次加入，也不可混成工作液加样）



三、S-UE 活力的计算

1、标曲绘制

标准曲线的建立：根据标准管的浓度（x， $\mu\text{g/mL}$ ）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， $\mu\text{g/mL}$ ）。

2、S-UE活力计算

单位的定义：每天每 g 土样中产生 $1\mu\text{g NH}_3\text{-N}$ 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] Sun H, Xing R, Ye X, Yin K, Zhang Y, Chen Z, Zhou S. Reactive oxygen species accelerate humification process during iron mineral-amended sludge composting. *Bioresour Technol.* 2023 Feb; 370:128544. doi: 10.1016/j.biortech.2022.128544. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36584721.

[2] Ahsan T, Tian PC, Gao J, Wang C, Liu C, Huang YQ. Effects of microbial agent and microbial fertilizer input on soil microbial community structure and diversity in a peanut continuous cropping system. *J Adv Res.* 2023 Nov 28; S2090-1232(23)00367-3. doi: 10.1016/j.jare.2023.11.028. Epub ahead of print. PMID: 38030126.

[3] Huang J, Ye J, Gao W, Liu C, Price GW, Li Y, Wang Y. Tea biochar-immobilized *Ralstonia Bcul-1* increases nitrate nitrogen content and reduces the bioavailability of cadmium and chromium in a fertilized vegetable soil. *Sci Total Environ.* 2023 Mar 25; 866:161381. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.161381. Epub 2023 Jan 5. PMID: 36621509.

[4] Yang C, Xia L, Zeng Y, Chen Y, Zhang S. Hexaploid *Salix rehderiana* is more suitable for remediating lead contamination than diploids, especially male plants. *Chemosphere.* 2023 Aug; 333:138902. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.138902. Epub 2023 May 12. PMID: 37182717.

[5] Bian X, Yang X, Zhang K, Zhai Y, Li Q, Zhang L, Sun X. Potential of *Medicago sativa* and *Perilla frutescens* for overcoming the soil sickness caused by ginseng cultivation. *Front Microbiol.* 2023 Apr 5; 14:1134331. doi: 10.3389/fmicb.2023.1134331. PMID: 37089541; PMCID: PMC10113677.

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

BC4040/BC4045 土壤中性转化酶（S-NI）活性检测试剂盒

