土壤尿酸酶活性检测试剂盒说明书

微量法

规格：100T/48S

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 2 mL×1 瓶（自备）	4℃保存
试剂二 A 液	液体 0.5 mL×1 支	4℃保存
试剂二 B 液	液体 17.5 mL×1 瓶	4℃保存
试剂三	液体 40 mL×1 瓶	4℃保存
试剂四	液体 50 mL×1 瓶	4℃保存
标准品	液体 1 mL×1 支	4℃保存

溶液的配制：

1、试剂二：临用前按照试剂二 A 液∶试剂二 B 液= 1∶35 的比例混合，根据样本量所需使用当天现配现用；

2、标准品：5 μmol/mL 的尿酸溶液。

产品说明：

土壤尿酸酶是一种与核酸代谢有关的氧化还原酶，主要是将土壤中的核酸腺嘌呤与尿酸等物质转化成尿囊素和尿囊酸，进而生成尿素供植物利用。

土壤尿酸酶能够催化尿酸生成尿囊素、CO_2 和 H_2O_2，尿酸在 284 nm 有特征吸收峰，通过测定反应前后尿酸的减少量，来表示土壤尿酸酶活性。

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：

紫外分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅、可调式移液器、微量石英比色/96 孔 UV 板、冰、30~50 目筛、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℃烘箱风干，过 30~50 目筛。

二、测定步骤

1、紫外分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 284 nm，蒸馏水调零。

2、将 5 μmol/mL 标准溶液用蒸馏水倍比稀释为 1、0.5、0.25、0.125、0.0625、0.03125、0.015625 μmol/mL 标准溶液。

3、加样表：

试剂名称	测定管	对照管	无土管	标准管	空白管
风干土样（g）	0.05	0.05	-	-	-
试剂一（μL）	12.5	12.5	12.5	-	-
充分振荡，使土样全部湿润，室温放置 30 min。					
试剂二（μL）	250	-	250	-	-
蒸馏水（μL）	250	250	250	-	-
试剂三（μL）	250	500	250	-	-
振荡混匀，30℃恒温培养 24 h；10000 rpm，25℃，离心 10 min，取上清。					
上清液（μL）	60	60	60	-	-
标准液（μL）	-	-	-	60	-
蒸馏水（μL）	-	-	-	-	60
试剂四（μL）	340	340	340	340	340

充分混匀，吸取 200 μL 于微量石英比色皿/96 孔 UV 板中测定 284 nm 处吸光值，记为 A 测定管、A 对照管、A 无土管、A 标准管和 A 空白管。计算 ΔA=（A 无土管-A 空白管）-（A 测定管-A 对照管）、ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。每个测定管需设一个对照管，同一批次样本检测无土管只需检测 1-2 管。

三、土壤尿酸酶活性计算

1、 标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 y=kx+b，将 ΔA 带入方程得到 x（μmol/mL）。

2、 土壤尿酸酶活性的计算：

酶活定义：每天每 g 土样中消耗 1 μmol 的尿酸定义为一个酶活力单位。

土壤尿酸酶活力（U/g 土样）＝x×V 反总÷W÷T=0.7625x÷W

T：反应时间，1 d = 24 h；V 反总：反应体系总体积：0.7625 mL；W：样本质量，g。

实验实例：

1. 称取两管 2-1-20 号土样 0.05g，按照操作步骤进行操作，使用微量石英比色皿测得计算 ΔA=（A 无土管-空白管）-（A 测定管-A 对照管）=（1.0928-0.0023）-（0.6852-0.0509）=0.4562，带入标准曲线 y=1.6894x + 0.0016，计算 x=0.2691，按照计算公式计算酶活得：

   土壤尿酸酶活力（U/g 土样）=0.7625x÷W=0.7625×0.2691÷0.05=4.1 U/g 土样。