

Urease 저해활성 측정 cuvette assay에 의한 중금속 이온 검출

김남수* · 김동경 · 박경림 · 강은미 · 박인선

한국식품개발연구원

(2003년 2월 10일 접수, 2003년 3월 17일 수리)

Urease 활성이 중금속 이온에 의하여 저해되는 현상을 알아보기 위하여 발색시약을 사용하는 광학적인 방법으로 효소반응에 의한 암모니아 발생량을 측정하였다. 암모니아 농도에 따른 cuvette assay 시의 흡광도 증가는 암모니아 농도 3.0 mg/l 까지 직선성을 보였으며 이 때의 상관계수는 0.998(r)이었다. 중금속 이온에 의한 urease의 저해활성을 알아보기 위하여 기질에 단일 중금속 이온의 농도별 용액을 가하여 흡광도를 측정한 결과 효소의 저해도는 Hg(II)>Pb(II)>Cu(II)>Cd(II)>Zn(II) 이온의 순으로 나타났다. 한 가지의 중금속 이온 농도를 고정하고 다른 중금속 이온을 각기 다른 농도로 가하면서 urease 활성을 측정하였을 때 효소의 저해도는 대체로 개별 중금속 이온에 의한 저해의 총합으로 나타났다. 상기의 결과는 본 연구의 방법이 Hg(II) 이온에 대한 선택적 검출법으로서 뿐만 아니라 여러 형태의 시료 중에 존재가능한 중금속 이온들을 정성적으로 판별하는 방법으로 활용될 수 있음을 보여주었다.

Key words: urease, 저해활성, cuvette assay, 중금속 이온

서 론

1992년 UN 환경개발회의(UNCED)에 의해 개최된 Rio 선언에 따라, 화학물질안전프로그램(IPCS)에서는 화학물질, 화학물질의 혼합물 및 화합물 등에 대하여 인체건강에 미치는 위해성 평가를 강화하고 확대하기로 결의하였다. 또한, 국제사회에서 인체건강과 밀접한 관계가 있는 농산물 중의 유해화학물질에 대한 관심이 높아지면서, 이들의 간이검출과 관련된 분석기법 개발이 전 세계적으로 이루어지고 있다. 이러한 노력에 의하여 다량의 시료조작 및 운반에 드는 비용을 절감하고 분석시간을 단축할 수 있게 되었고, 현장결과에서 양성으로 나타난 소량의 시료만을 실험실로 운반하여 정밀분석법으로 확인할 수 있게 되었다.¹⁻³⁾

현재 환경기준에 따르면 인체의 건강보호를 위하여 농업용수 등 각종 수자원 중의 특정유해물질인 수은(Hg), 납(Pb) 등 중금속의 허용농도를 미검출 및 극미량 이하로 규제하고 있으나, 각종 폐수에 이들 물질이 허용농도 이상으로 배출될 경우 이들이 농업용 수원으로 사용되는 하천 및 소하천, 저수지 등에 전이될 가능성이 높다. 이와 같은 관점에서 보면 각종 농산물의 중금속 오염 가능성이 있고 이에 따라 그 여부를 신속히 평가할 수 있는 현장성있는 정성 및 정량목적의 분석기법의 개발이 필요하다.

Urease 활성이 중금속 이온에 의하여 저해되는 현상을 이용하면 신속한 중금속 검사법의 개발이 가능할 것으로 사료된다.^{1,4)} 그 한 예로 microtiter plate를 사용하는 urease inhibition assay를 들 수 있는데, 이는 중금속에 의한 urease의 활성저해

가 발생할 때 감소하는 암모니아의 발생량을 발색시약(chromogenic reagent)을 사용하여 광학적으로 측정하거나 이온감응전극(ion-sensitive electrode)을 사용하여 전기화학적으로 측정하는 방법이다.⁵⁾ Meier 등⁶⁾은 유리상태의 urease를 사용하는 microtiter plate assay를 자동화한 온라인 측정시스템을 개발하였다. 최근에는 각각의 중금속 이온에 대한 항체를 사용하여 카드뮴(Cd), 납, 수은 등을 개별정량할 수도 있게 되었다.^{1,4)}

본 연구에서는 발색시약을 사용하여 암모니아의 발생량을 광학적으로 측정하며, urease 활성이 중금속 이온에 의하여 저해되는 현상을 이용하여 중금속 이온을 간편하게 검출할 수 있는 cuvette assay를 확립하고, 개별 및 복합 중금속 이온에 의한 urease의 저해특성을 검토하였기에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

시약. 중금속 이온에 의한 활성저해 실험에 사용된 urease(EC 3.5.1.5, from jack bean), 암모니아 표준용액과 효소반응의 기질인 urea는 시그마사(MO, USA)에서 구입하였다. Urease의 반응결과 생성되는 암모니아는 분광광도계에 의하여 630 nm에서 측정하였는데 이 때 발색시약인 시약 A(phenol-nitroprussid solution)와 시약 B(alkaline hypochlorite solution)는 각각 다음과 같이 조제하였다. 즉, 시약 A는 6g의 phenol을 70 ml의 pH 12 완충용액(30 g trisodium phosphate · 12수화물, 30 g sodium citrate · 2수화물과 3 g EDTA를 소량의 증류수에 용해시킨 후 증류수를 가하여 1 l로 정용하여 제조)에 용해시킨 후 0.02 g의 sodium nitroprussid(시그마사)를 가하고 pH 12 완충용액으로 100 ml로 정용하였다. 시약 B는 16 g sodium hydroxide, 150 g/l의 sodium hypochlorite 7 ml를 증류수로 1 l로 정용하였다.

Urease 활성저해 실험에 사용된 중금속 이온인 Hg(II), Pb(II),

*연락처

Phone: 82-31-780-9131, Fax: 82-31-709-9876

E-mail: k9130sen@hanmail.net

Cu(II), Zn(II) 및 Cd(II) 이온은 각각 특급의 sulfate 염을 사용하였으며 기타 다른 시약도 특급의 것을 사용하였다.

Cuvette assay에 의한 암모니아 측정. Urease에 의한 기질 분해 시 발생하는 암모니아는 microtiter plate를 사용하는 urease inhibition assay⁵⁾를 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 암모니아 용액을 2 ml씩 또는 urease 용액 0.4 ml와 증류수 100 μ l를 시험관에 넣고 여기에 urea 용액 1.6 ml와 위에서 제조한 발색시약 A와 B를 각각 600과 900 μ l씩 넣은 후 25°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer(Jasco V-550, Japan)를 사용하여 630 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

중금속 이온에 의한 urease 저해활성 측정. 중금속 이온에 의한 urease 저해활성은 다음과 같이 측정하였다. 먼저 시험관에 0.4 mg/l의 urease 용액 0.4 ml를 넣은 후 증류수와 중금속 이온 용액을 각각 50 μ l씩 가하였다. 여기에 1.1% urea 용액 1.6 ml를 넣은 후 25°C에서 15분간 방치하여 urease의 저해반응을 유도하고 발색시약 A와 B를 가한 후 상기의 cuvette assay를 행하였다. 이 때 urease 저해활성은 중금속 이온 용액을 첨가하는 대신 증류수 100 μ l를 가한 대조구의 효소활성을 100으로 하였을 때의 상대활성(relative activity)으로 표시하였다. 한편, 두 종류 중금속 이온의 공존효과를 알아보기 위하여 기준이 되는 중금속 이온 용액 50 μ l와 다른 종류의 중금속 이온 용액 50 μ l를 가한 후 상기의 방법으로 발색시키고 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

Cuvette assay 조건 실험. 암모니아 용액을 0.1~3.0 mg/l 농도로 조제하여 시험관에 넣고 cuvette assay를 행하였다. 표준곡선을 작성한 결과 공식된 암모니아 용액의 농도범위에서 흡광도는 0.070~1.795이었고 흡광도와 암모니아 농도 사이에는 0.998(r)의 높은 상관관계가 나타났다(Fig. 1).

Cuvette assay에 필요한 urease와 그 반응기질인 urea의 농도를 변화시키면서, 이 때 발생하는 암모니아의 양을 Fig. 1의 표준곡선에서 계산하여 도시한 결과는 Fig. 2와 같다. 먼저 urease

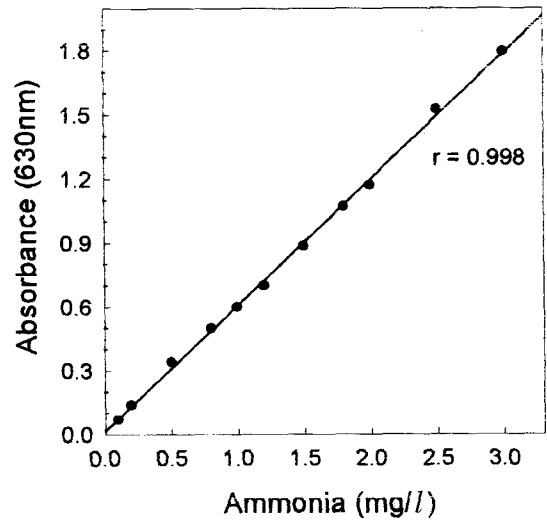


Fig. 1. Ammonia standard curve of the cuvette assay.

의 농도변화에 따른 영향에 대하여 urease 농도를 0.5 mg/l에서 순차적으로 증가시키면서 실험하였으며 이 때 urea의 농도는 1%로 하였다(Fig. 2, panel A). 이 경우 효소반응 지표인 흡광도는 0.041~14.080까지 증가하여 urease 농도에 따른 의존성이 매우 높음을 알 수 있었다. 분광광도계에 의한 분석 시 시료의 희석을 행하지 않거나 최소화하는 것이 바람직하고, 또한 Lambert-Beer의 법칙⁷⁾에 따라 직선성을 나타내는 흡광도 범위에서 실험하여야 정확한 측정이 가능하므로, 본 연구에서는 이와 같은 조건을 만족시켜 줄 수 있는 0.4 mg/l의 urease 농도를 이 후의 실험에 사용하였다. Urease의 농도를 0.4 mg/l로 고정하고 urea를 0.2 M sodium acetate buffer(pH 5.0)에 각각 1, 2, 5, 8 및 10% 농도로 용해하여 기질용액을 조제하였다. 기질의 농도변화에 따른 암모니아의 발생정도를 urease 농도증가에 따른 경우와 비교해 보았을 때 본 실험의 조건에서는 urea 농도에 따른 의존성이 그리 크지 않음을 알 수 있었다(Fig. 2, panel B). 이와 같은 결과에 따라 이 후의 실험에 사용된 urea의 농도는 1%로 하였다.

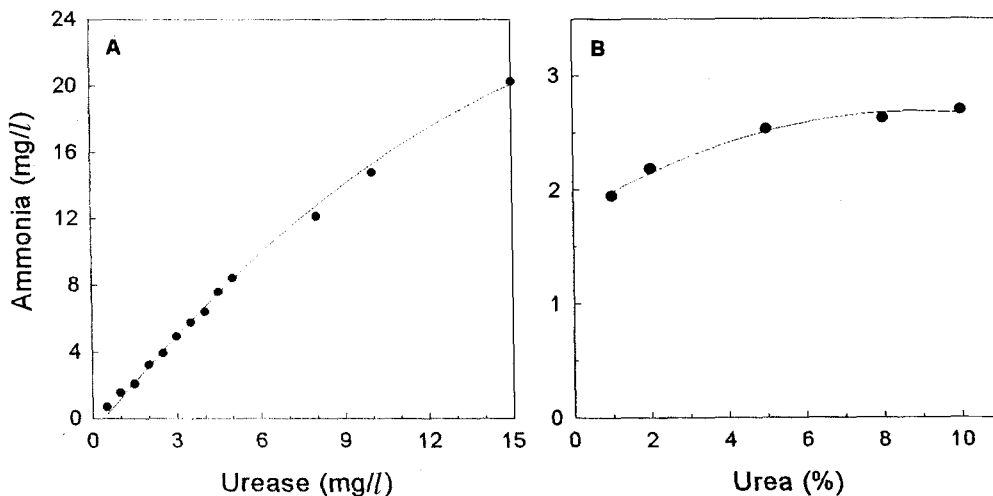


Fig. 2. Effects of the concentrations of urease (A) and urea (B) on ammonia production.

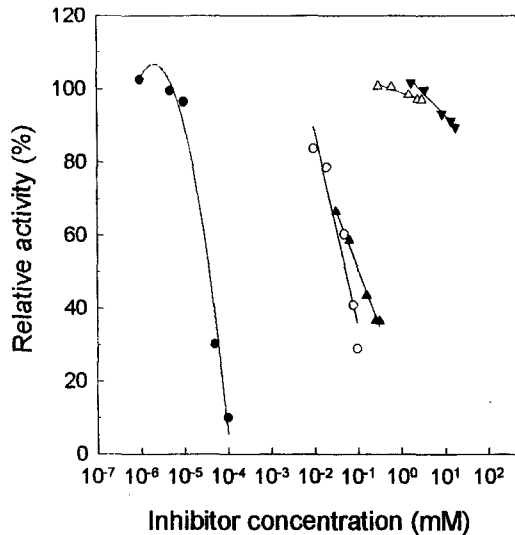


Fig. 3. Urease inhibitions with heavy metal ions. Symbols. ●; Hg(II), ○; Pb(II), ▲; Cu(II), △; Zn(II), ▼; Cd(II).

단일 중금속 이온에 의한 urease 활성저해. Fig. 2의 실험 결과에서 선정된 urease 및 urea의 농도인 0.4 mg/l와 1.1%를 사용하여 Hg(II), Pb(II), Cu(II), Zn(II) 및 Cd(II)의 단일 중금속 이온에 의한 urease의 활성저해도를 측정하였다(Fig. 3).

먼저 단일 중금속 이온을 cuvette assay의 반응 혼합물에 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 측정한 결과 전 실험과정에서 1.663보다 낮은 값을 보여주었으며, 이와 같은 흡광도 수치는 Fig. 1에서 직선성을 보여주는 구간내에 존재하므로, 발색 후 시료의 회색과정을 거치지 않고 측정을 행하여도 무방하였다.

Hg(II) 이온에 의한 urease 활성저해를 살펴보기 위하여 Hg(II) 이온의 농도를 1.0×10^{-6} , 5.0×10^{-6} , 1.0×10^{-5} , 5.0×10^{-5} 및 1.0×10^{-4} mM로 달리하여 첨가하여 본 결과, 흡광도는 1.476에서

점차로 감소하여 0.151까지 떨어져 urease가 10.2%의 효소활성을 나타내는 수준까지 저해됨을 알 수 있었다. Pb(II) 이온을 9.7×10^{-4} , 1.9×10^{-2} , 4.8×10^{-2} , 7.7×10^{-2} 및 9.7×10^{-2} mM에 해당하는 농도로 첨가하면, 흡광도는 0.950에서 0.328로 감소하여 이로부터 효소활성의 저해도가 71.2%에 이르렀다. Cu(II) 이온을 3.2×10^{-3} , 6.3×10^{-3} , 1.6×10^{-2} , 2.5×10^{-1} 및 3.2×10^{-1} mM의 농도로 첨가한 후의 흡광도는 1.663에서 점차 감소하여 0.606에 이르러 63.6%의 효소활성이 감소하였다. Zn(II) 이온의 경우 3.1×10^{-1} , 6.1×10^{-1} , 1.5, 2.5 및 3.1 mM 농도로 첨가하여도 흡광도는 1.514에서 1.469까지 미약하게 감소하여 3.1 mM 농도의 Zn(II) 이온 첨가 시의 상대활성이 97.0%에 이르는 것으로 나타났다. 이와 같은 사실은 Hg(II) 이온 등이 urease의 강력한 저해제로 작용하는 사실을 확인시켜 준 반면 Zn(II) 이온은 urease의 저해에 거의 관여하지 않는 것을 보여 준다.⁸⁾ Cd(II) 이온의 경우 1.8, 3.6, 8.9, 14.2 및 17.8 mM에 해당하는 농도로 첨가하였을 때 흡광도는 1.156에서 1.018까지 감소하여 효소활성이 최대 11.9% 저해되었다. 이상의 결과로부터 urease에 대한 중금속 이온의 저해도는 Hg(II) > Pb(II) > Cu(II) > Cd(II) > Zn(II) 이온의 순으로 나타났으며 이를 Preininger와 Wolfbeis 등⁹⁾이 암모니아 감응성 막 등을 사용하여 중금속 이온에 의한 urease 저해반응을 측정된 실험결과와 비교하면 Pb(II) 이온에 의한 저해가 Cu(II) 이온에 의한 저해보다 약간 낮은 농도에서 발생함이 특징적이었다.

본 연구의 cuvette assay는 urease가 Hg(II) 이온 등의 중금속 이온에 의하여 저해되는 특성을 이용한 것이므로 효소의 저해에 따른 발색정도를 측정하여 수계 혹은 각종 농산물 및 가공식품의 전처리된 시료에서 중금속 이온의 존재를 탐색하는데 활용될 수 있을 것으로 여겨지나, Fig. 3에서 볼 수 있는 것처럼 Hg(II) 이온과 Pb(II) 및 Cu(II) 이온의 측정가능범위가 현저하게 다르므로 시료에 따라 Hg(II) 이온을 선택적으로 측정하

Table 1. Inhibitions of the urease activity according to the added other metal ions to Hg(II) ions

Inhibitor (mM)	Added other metal ions (mM)				Relative activity (%) ^a			
	Pb(II)	Cu(II)	Zn(II)	Cd(II)	Pb(II)	Cu(II)	Zn(II)	Cd(II)
Hg(II) (0.00001)	Control	Control	Control	Control	100.0	100.0	100.0	100.0
	0.0097	0.032	0.306	1.78	86.9	90.3	100.6	97.2
	0.0193	0.063	0.612	3.56	74.8	78.0	98.4	93.7
	0.0483	0.158	1.530	8.90	55.1	68.1	95.5	92.9
	0.0773	0.252	2.448	14.24	35.8	45.2	94.9	90.1
	0.0966	0.315	3.060	17.80	31.4	35.2	91.4	89.6

^aThe enzyme activity of the control containing Hg(II) ions only was arbitrarily taken as 100%.

Table 2. Inhibitions of the urease activity according to the added other metal ions to Pb(II) ions

Inhibitor (mM)	Added other metal ions (mM)				Relative activity (%) ^a			
	Hg(II)	Cu(II)	Zn(II)	Cd(II)	Hg(II)	Cu(II)	Zn(II)	Cd(II)
Pb(II) (0.0097)	Control	Control	Control	Control	100.0	100.0	100.0	100.0
	0.000001	0.032	0.306	1.78	99.0	83.2	100.2	99.7
	0.000005	0.063	0.612	3.56	97.6	70.5	98.6	98.3
	0.000010	0.158	1.530	8.90	91.1	60.2	97.3	98.0
	0.000050	0.252	2.448	14.24	57.4	55.2	96.9	97.8
	0.000100	0.315	3.060	17.80	6.9	52.7	92.8	97.9

^aThe enzyme activity of the control containing Pb(II) ions only was arbitrarily taken as 100%.

Table 3. Inhibitions of the urease activity according to the added other metal ions to Cu(II) ions

Inhibitor (mM)	Added other metal ions (mM)				Relative activity (%) ^a			
	Hg(II)	Pb(II)	Zn(II)	Cd(II)	Hg(II)	Pb(II)	Zn(II)	Cd(II)
Cu(II) (0.032)	Control	Control	Control	Control	100.0	100.0	100.0	100.0
	0.000001	0.0097	0.306	1.78	97.9	82.9	104.0	95.3
	0.000005	0.0193	0.612	3.56	96.5	79.1	100.6	93.9
	0.000010	0.0483	1.530	8.90	93.9	67.5	99.8	93.0
	0.000050	0.0773	2.448	14.24	75.4	52.3	96.9	86.0
	0.000100	0.0966	3.060	17.80	18.6	42.7	95.7	84.8

^aThe enzyme activity of the control containing Cu(II) ions only was arbitrarily taken as 100%.

Table 4. Inhibitions of the urease activity according to the added other metal ions to Zn(II) ions

Inhibitor (mM)	Added other metal ions (mM)				Relative activity (%) ^a			
	Hg(II)	Pb(II)	Cu(II)	Cd(II)	Hg(II)	Pb(II)	Cu(II)	Cd(II)
Zn(II) (3.06)	Control	Control	Control	Control	100.0	100.0	100.0	100.0
	0.000001	0.0097	0.032	1.78	95.0	86.7	94.2	95.2
	0.000005	0.0193	0.063	3.56	93.4	74.6	82.5	84.3
	0.000010	0.0483	0.158	8.90	84.1	58.0	64.7	83.8
	0.000050	0.0773	0.252	14.24	29.7	43.2	48.5	81.4
	0.000100	0.0966	0.315	17.80	14.6	34.4	35.9	79.0

^aThe enzyme activity of the control containing Zn(II) ions only was arbitrarily taken as 100%.

Table 5. Inhibitions of the urease activity according to the added other metal ions to Cd(II) ions

Inhibitor (mM)	Added other metal ions (mM)				Relative activity (%) ^a			
	Hg(II)	Pb(II)	Cu(II)	Zn(II)	Hg(II)	Pb(II)	Cu(II)	Zn(II)
Cd(II) (17.80)	Control	Control	Control	Control	100.0	100.0	100.0	100.0
	0.000001	0.0097	0.032	0.306	98.0	98.5	80.7	102.4
	0.000005	0.0193	0.063	0.612	93.6	93.9	66.2	101.7
	0.000010	0.0483	0.158	1.530	89.0	72.5	57.0	98.1
	0.000050	0.0773	0.252	2.448	57.2	51.7	44.0	96.7
	0.000100	0.0966	0.315	3.060	8.1	17.9	42.8	97.0

^aThe enzyme activity of the control containing Cd(II) ions only was arbitrarily taken as 100%.

는 데에도 사용가능할 것으로 여겨진다.^{8,9)} 이 경우 Hg(II) 이온이 10^{-5} mM 내외로 존재하여도 urease 활성저해가 시작되고, 이 농도는 외국의 경우¹⁰⁾ 수산가공품에서 허용된다고 보고되는 농도인 0.5~1.0 ppm보다 현저하게 낮아, 본 연구의 cuvette assay에 있어서 시료의 전처리를 행할 때 농축과정과 같은 별도의 단계를 거치지 않아도 될 것으로 사료되었다.

복합 중금속 이온에 의한 urease 활성저해. 한가지 중금속 이온의 농도를 고정하고 다른 중금속 이온을 각기 다른 농도로 첨가하면서 urease의 활성변화를 측정하였다. 먼저 Hg(II) 이온의 농도를 1.0×10^{-5} mM로 고정한 후 Pb(II), Cu(II), Zn(II) 및 Cd(II) 이온의 농도를 달리하여 첨가한 결과 본 연구의 첨가수준에서 urease 활성은 Hg(II) 이온에 Pb(II) 및 Cu(II) 이온을 첨가한 경우 가장 낮은 것으로 나타났다(Table 1).

Pb(II) 이온의 농도를 9.7×10^{-3} mM로 고정하고 다른 중금속 이온을 각자 농도별로 첨가한 경우 Hg(II) 이온 첨가 시 urease의 활성저해가 가장 현저하여 1.0×10^{-4} mM 농도의 Hg(II) 이온을 첨가하였을 때의 효소의 상대활성은 6.9%로 매우 낮았다. 또한 Cu(II) 이온의 농도별 첨가에 의해서도 효소활성이 상당

한 수준으로 저해됨을 알 수 있었다(Table 2).

Cu(II) 이온의 농도가 3.2×10^{-2} mM이 되도록 하고 여기에 다른 중금속 이온의 농도를 변화시키며 첨가한 후의 효소활성은 Hg(II) 및 Pb(II) 이온 첨가 시 가장 낮게 나타났다(Table 3). Zn(II) 이온의 농도를 3.06 mM로 고정하고 여기에 다른 중금속 이온을 농도별로 첨가한 결과 Hg(II), Pb(II) 및 Cu(II) 이온 첨가에 의한 urease의 활성저해가 현저하여 Hg(II) 이온을 1.0×10^{-4} mM 농도로 첨가하였을 경우 상대활성이 14.6%로 나타났다(Table 4). Cd(II) 이온을 17.80 mM의 농도로 고정하고 여기에 다른 중금속 이온을 농도별로 첨가하였을 때에도 Hg(II), Pb(II) 및 Cu(II) 이온을 첨가한 처리구에서 urease 활성저해가 현저하였고 이 때 Hg(II) 이온을 1.0×10^{-4} mM 농도로 첨가하였을 때의 상대활성은 8.1%에 불과하여 효소활성의 저해가 가장 높았다(Table 5). 상기의 결과를 고찰해보면 단일 중금속 이온의 농도를 고정하고 다른 중금속 이온을 농도별로 가하였을 때 urease 활성저해는 대체로 개별 중금속 이온에 의한 저해의 총합으로서 나타났으므로⁹⁾ 본 연구의 cuvette assay가 시료 중의 존재하는 Hg(II) 이온에 대한 선택적 검출법으로서 뿐만 아

나라, 존재가능한 중금속 이온들에 대한 간이검출법으로도 효율적임을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임.

참고문헌

1. Hansen, P. D. and Von Usdam, A. (1997) New biosensors for environmental analysis. *Exs.* **81**, 109-120.
2. McDonald, J. A. (1994) Environmental biosensors gaining respect. *Biosens. Bioelectron.* **9**, xiii-xiv.
3. Rogers, K. R. and Lin, J. N. (1992) Biosensors for environmental monitoring. *Biosens. Bioelectron.* **7**, 317-321.
4. Wu, Z., Guan, L., Shen, G. and Yu, R. (2002) Renewable urea sensor based on a self-assembled polyelectrolyte layer. *Analyst* **127**, 391-395.
5. Wittekindt, E., Werner, M., Reinicki, A., Herbert, A. and Hansen, P. D. (1996) A microtiter-plate urease inhibition assay-sensitive, rapid and cost-effective screening for heavy metals in water. *Environ. Technol.* **17**, 597-603.
6. Meier, H., Lantreibecq, H. and Trinh Minh, C. (1992) Application and automation of flow injection analysis (FIA) using fast responding enzyme glass electrodes to detect penicillin in fermentation broth and urea in human serum. *J. Autom. Chem.* **14**, 137-143.
7. Clark Jr, J. M. and Switzer, R. L. (1977) Photometry. In *Experimental biochemistry*. Freeman, San Francisco. pp. 5-13.
8. Vel Krawczyk, T. K., Moszczynska, M. and Trojanowicz, M. (2000) Inhibitive determination of mercury and other metal ions by potentiometric urea biosensor. *Biosens. Bioelectron.* **15**, 681-691.
9. Preininger, C. and Wolfbeis, O. (1996) Disposable cuvette test with integrated sensor layer for enzymatic determination of heavy metals. *Biosens. Bioelectron.* **11**, 981-990.
10. Concon, J. M. (1988) In *Food toxicology. Contaminants and additives*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 1033-1149.

Detection of Heavy Metal Ions by the Cuvette Assay Measuring Urease Inhibitory Activity

Namsoo Kim*, Dong-Kyung Kim, Kyung-rim Park, Eun-Mi Kang and In-Seon Park (*Korea Food Research Institute, Songnam 463-746, Korea*)

Abstract: To determine the urease inhibitory activity of various heavy metal ions, a photometric cuvette assay for measuring ammonia production was developed. In this assay, the absorbance values at 630 nm were linearly increased according to the ammonia concentrations up to 3.0 mg/l ($r = 0.998$). The urease inhibitions upon addition of a single species of heavy metal ions were in the decreasing order of Hg(II) > Pb(II) > Cu(II) > Cd(II) > Zn(II) ions. As expected, the urease inhibitions at a fixed concentration of a single species and at varying concentrations of other species occurred in the additive way. The above results show the applicability of the current method to the selective detection on Hg(II) ions as well as the screening of heavy metal ions possibly present at various samples.

Key words: urease, inhibitory activity, cuvette assay, heavy metal ions

*Corresponding author