

尿素（Urea）含量（酶法）检测试剂盒说明书

（货号：G1201W 微板法 96 样）

一、产品简介：

尿素（Urea）又称碳酰胺，旧称尿素氮（BUN），是哺乳动物和某些鱼类体内蛋白质代谢分解的主要含氮产物，也是目前含氮量最高的氮肥。

该试剂盒利用尿素在脲酶的作用下水解产生氨离子和二氧化碳，氨离子在碱性介质中与酚显色剂生成蓝色物质，该物质的生成量与尿素含量成正比。通过于625nm处检测该有色物质含量进而得出尿素氮含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 mg×1 支	-20℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加 1.1mL 的蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 3mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	试剂三 A×2 支 试剂三 B×1 支	4℃保存	临用前向一支试剂三 A 中加入 46μL 的试剂三 B，混匀备用。
标准管	粉体 mg×2 支	4℃保存	每支临用前加 1mL 蒸馏水溶解，即浓度为 6mg/mL 的尿素，检测前再用蒸馏水稀释 200 倍（5:995）即成 0.03mg/mL（0.5mmol/L）的尿素。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、天平、移液器、离心机、蒸馏水。

四、尿素（Urea）含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 液体样品：液体样品：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 室温离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10⁴）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30min，设置温度在 37℃，设定波长到 625nm。

② 做实验前选取 2 个样本，找出适合本次检测样本的稀释倍数 D（如：尿液样本可用蒸馏水稀释 100 倍）。

③ 所有试剂解冻至室温，在 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	20		
蒸馏水		20	
标准品			20
试剂一	10	10	10
蒸馏水	130	130	130
混匀, 37°C避光反应 15min			
试剂二	20	20	20
试剂三	20	20	20
混匀, 37°C避光反应 20min, 于 625nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【注】: 1.测定管的 A 值若超过 1.5, 可把样本用生理盐水或蒸馏水进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2.若 ΔA 的差值在零附近徘徊, 可增加样本加样量 V1 (如增至 50 μL , 则蒸馏水相应减少, 保持总体积不变; 空白管和标准管维持不变), 则改变后的 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算:

1、按液体体积计算:

$$\begin{aligned}\text{尿素含量}(\text{mg/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times 10^3 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 30 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{尿素含量}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \div 60.04 \times 10^3 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 0.5 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

2、按细胞数量计算:

$$\begin{aligned}\text{尿素含量}(\text{ng}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times 10^6 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 60 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{尿素含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \div 60.04 \times 10^6 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

C 标准---尿素标品浓度, 0.03mg/mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1;

V1---加入样本体积, 0.02mL;

V 标---加入标准品体积, 0.02mL;

V---提取液体积, 1mL;

60.04---尿素分子量;

500---细胞数量, 万。