

尿素(Urea)/尿素氮含量(脲酶法)

- 【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640nm处检测该有色物质含量进而计算得出尿素氮含量。

【货 号】 TMC005

【规 格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体25mL×1瓶	4℃	可-20℃分装冻存, 尽量减少反复冻融。
试剂二	液体115mL×1瓶	4℃	
试剂三	试剂三A: 3mL×4支 试剂三B: 0.5mL×1支	4℃	临用前向一支试剂三A(3mL)中加入90uL的试剂三B(3mL:90uL), 混匀后再用去离子水稀释十倍(1:9)备用, 避光保存, 最好一周内用完。
标准管	粉体 mg×2支	4℃	每支临用前加1mL去离子水溶解, 即浓度为6mg/mL的尿素, 检测前再用去离子水稀释20倍(50:950)即成0.3mg/mL(5mmol/L)的尿素。

【保存条件】 4℃保存, 有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①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(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③组织样本：取约0.1g组织，加入1mL生理盐水，进行冰浴匀浆。
4℃×12000rpm离心10min，取上清，置冰上待测。

注：若增加样本量，可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10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640nm。

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EP管中依次加入：

试剂名称(uL)	测定管	空白管（仅做一次）	标准管（仅做一次）
样本	5		
去离子水		5	
标准品			5
试剂一	50	50	50
混匀，37℃反应10min。			
试剂二	200	200	200
试剂三	200	200	200
混匀，37℃孵育30min后，取出200uL澄清液体至96孔板中，于640nm处读吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

3、结果计算：

尿素(mg/L) = $(C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D = 300 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

尿素(mmol/L) = $(C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D = 5 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

尿素氮(mmol/L) = $(C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_1 \times 2 \times D = 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

尿素氮(mg/dL) = $(C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V_1 \times 2 \times 14 \div 10 \times D = 14 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$

W---取样质量，g；

$C_{\text{标准}}$ ---尿素标品浓度，0.3mg/mL 即 5mmol/L=5 μ mmol/mL；

V_1 ---加入样本体积，0.005mL； $V_{\text{标}}$ ---加入标准品体积，0.005mL；

V---提取液体积，1mL； 14---氮元素分子量；

500---细胞数量，万； 2---分子尿素含有 2 个氮元素；

60.04---尿素分子量； D---稀释倍数，未稀释即为 1。

- 【注意事项】**
- 1、测定管显色过深时，请将样品适当稀释。
 - 2、酶工作液现配现用，不可久置。
 - 3、样本中氨含量较高的话，可设定样本对照管。
 - 4、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
 - 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
-