

尿素/尿素氮(Urea)含量(脲酶法)（微板法）

产品货号：BA2721

产品规格：96样

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出尿素氮含量。

产品内容：

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体5.5mL×1瓶	-20℃	可-20℃分装冻存，尽量减少反复冻融。
试剂二	液体22mL×1瓶	2-8℃	
试剂三	试剂三A：1mL×3支 试剂三B：0.2mL×1支	2-8℃	临用前向一支试剂三A(1mL)中加入30μL试剂三B(1mL:30μL)，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	2-8℃	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。

自备材料：

酶标仪、96孔板、天平、移液器、离心机、水浴锅/金属浴/恒温培养箱、去离子水。

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(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(μL)	测定管	空白管（仅做一次）	空白管（仅做一次）
样本	5		
去离子水		5	
标准品			5



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂一	50	50	50
混匀，37°C反应10min			
试剂二	200	200	200
试剂三	200	200	200
混匀，37°C孵育30min，取出200μL澄清液体至96孔板中，于640nm处读吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。			

【注】1.测定管A值若超过1.5，样本可用生理盐水或去离子水进行稀释，稀释倍数D代入公式。
2.若已知样本自身含有氨离子，可增加一个对照管(5μL样本+50μL去离子水，37°C反应10min后，再依次加入200μL试剂二和200μL试剂三，37°C反应30min后读值， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。若对照管值低于空白管值可以省略掉对照管的测定。

结果计算：

1. 按液体体积计算：

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

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

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

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

2. 按细胞数量计算：

$$\text{尿素(ng/10}^4\text{cell)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^6 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D = 600 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{尿素(nmol/10}^4\text{cell)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D = 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{尿素氮(nmol/10}^4\text{cel)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times 2 \times D = 20 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

3. 按样本质量计算：

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

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

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

W---取样质量，g；C_{标准}---尿素标品浓度，0.3mg/mL即5mmol/L=5μmmol/mL；V₁---加入样本体积，0.005mL；V_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---一分子尿素含有2个氮元素；60.04---尿素分子量；D---稀释倍数，末稀释即为1。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com