

尿素/尿素氮(Urea)含量(脲酶法)(可见分光光度法)

产品货号: BA2720

产品规格: 48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得出尿素氮含量。

产品内容:

产品名称	规格	保存条件	备注
试剂一	液体4.5mL×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: 0.8mL×3支 试剂三B: 0.2mL×1支	2-8℃	临用前向一支试剂三A(0.8mL)中加入24μL试剂三B(0.8mL:24μL), 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40倍(25:975)即成0.15mg/mL(2.5mmol/L)的尿素。

自备材料:

可见分光光度计、1mL、玻璃比色皿(光径1cm)、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: 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 可见分光光度计预热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	8		



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

去离子水		8	
标准品			8
试剂一	80	80	80
混匀，37°C反应10min			
试剂二	350	350	350
试剂三	350	350	350
混匀，37°C孵育30min后，全部澄清液体转移至1mL玻璃比色皿（光径1cm）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(8μL样本+80μL去离子水，37°C反应10min后，再依次加入350μL试剂二和350μL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：

$$\text{尿素(mg/L)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D = 150 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{尿素(mmol/L)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times D = 2.5 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{尿素氮(mmol/L)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times 2 \times D = 5 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{尿素氮(mg/dL)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div V1 \times 2 \times 14 \div 10 \times D = 7 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

2. 按细胞数量计算：

$$\text{尿素(ng/10}^4\text{cell)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^6 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times D = 300 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{尿素(nmol/10}^4\text{cell)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times D = 5 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

$$\text{尿素氮(nmol/10}^4\text{cel)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times 2 \times D = 10 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

3. 按样本质量计算：

$$\text{尿素(μg/g)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times D = 150 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

$$\text{尿素(μmol/g)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times D = 2.5 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

$$\text{尿素氮(μmol/g)} = (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (W \times V1 \div V) \times 2 \times D = 5 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$$

W---取样质量，g；C_{标准}---尿素标品浓度，0.15mg/mL即2.5mmol/L=2.5μmmol/mL；V1---加入样本体积，0.008mL；V_标---加入标准品体积，0.008mL；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，未稀释即为1。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com