

牛奶中尿素氮 (MUN) 含量 (酶法) 检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-N013 分光法 48 样)

一、产品简介:

奶牛生产中所用的尿素氮通常是指乳尿素氮(milk urea nitrogen, MUN)。MUN 主要来源于瘤胃降解蛋白。测定 MUN 对保持奶牛能氮平衡、发挥生产潜能及最大效率利用饲料蛋白质、降低成本等有着深远意义。

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牛奶中尿素氮 (MUN) 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 A	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 B	液体 3mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 C	液体 3mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 0.8mL×2 支	-20°C保存	可-20°C分装冻存, 尽量减少反复冻融。
试剂二	液体 4mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	试剂三 A 2.5mL×2 支 试剂三 B 0.2mL×1 支	4°C保存	临用前向一支试剂三 A 中加入 77μL 的试剂三 B, 混匀备用。
标准管	粉体 2 支	4°C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:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、天平、移液器、离心机、蒸馏水。

四、牛奶中尿素氮 (MUN) 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:

试剂名称 (μL)	加入量
试剂 A	100
蒸馏水	1200
牛奶样本	100
试剂 B	50
试剂 C	50
混匀, 静置 5min, 12000rpm 离	

心 10min, 上清液待检测。

【注】：若离心后上清液仍不是很澄清，可再次离心直至上清液澄清为止。

2、上机检测：

- ① 可见分光光度计预热 30min, 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。
- 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)	标准管 (仅做一次)
样本	60		
蒸馏水		60	
标准品			60
试剂一	30	30	30
蒸馏水	550	550	550
混匀, 37°C避光反应 15min			
试剂二	80	80	80
试剂三	80	80	80
混匀, 37°C避光反应 20min, 全部澄清液体转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 625nm 处读取吸光值 A, ΔA=A 测定-A 空白。			

【注】：1.测定管 A 值若超过 1.5, 可把样本用蒸馏水进行稀释, 稀释倍数 D 代入公式。

2.若ΔA 差值在零附近徘徊, 可增加样本加样量 V1 (如增至 120μL, 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 V1 需代入公式重新计算。

五、结果计算：

1、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{牛奶尿素氮(MUN)}(\text{mg/mL}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \div 60.04 \times 2 \times 14 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 0.014 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times 15 \times \text{D} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{牛奶尿素氮(MUN)}(\text{mg/dL}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \div 60.04 \times 2 \times 14 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \times 100 \\ &= 1.4 \times \Delta A \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times 15 \times \text{D} \end{aligned}$$

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, 0.06mL;

V 标---加入标准品体积, 0.06mL;

15---样本制备阶段牛奶样本稀释倍数;

60.04---尿素分子量;

2---一分子尿素含有 2 个氮元素;

14---氮元素分子量。