

尿素含量（二乙酰一肟法）检测试剂盒说明书

（分光法 48 样）

一、产品简介：

在加热和强酸条件下，尿素与二乙酰一肟及安替比林反应呈黄色，在波长460 nm 处有特征吸收峰。通过检测生成的黄色物质在460nm处的增加量进而得出样本中尿素含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 2.5mL×1 瓶	4℃ 保存	
试剂二	粉体 mg×1 瓶	4℃ 保存	临用前甩几下使粉体落入底部，先加 2.8mL 蒸馏水溶解，再缓慢加 2.8mL 磷酸混匀，最后再加 5.6mL 硫酸混匀，冷却至室温备用。
标准管	粉体 mg×2 支	4℃ 保存	临用前每支加1mL蒸馏水溶解(4mg/mL)，再用蒸馏水稀释40倍（1:39）成0.1mg/mL。

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、尿素含量检测：

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：

0.1g 组织样本，加 1mL 的蒸馏水研磨，超声萃取 10min 后定容至 1mL，室温静置 30min，12000rpm，常温离心 10min，上清液待测。

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 460nm。
- 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 管依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管	对照管	空白管 （仅做一次）	标准管 （仅做一次）
样本	100	100		
蒸馏水		50	100	
标准品				100
试剂一	50		50	50
试剂二	100	100	100	100
混匀，95℃沸水浴反应 20min				
蒸馏水	500	500	500	500
混匀，（若浑浊则 5000rpm 室温离心 5min 后取上清液测定）取 700 μL 至 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中，于 460nm 处读吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。				

【注】：测定管的 A 值若超过 1.5，可把样本再进行稀释，稀释倍数 D 代入计算公式。

五、结果计算：

1、按照组织质量计算：

尿素含量(mg/g)=(C 标准×V1)× $\Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V1 \div V \times W) \times D = 0.1 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$

尿素含量(mg/kg)=(C 标准×V1)× $10^3 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V1 \div V \times W) \times D = 100 \times \Delta A \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div W \times D$

C 标准---尿素标品浓度，0.1mg/mL； D---稀释倍数，未稀释即为 1； 60.04---尿素分子量；

W---取样质量，g； V---提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.1mL。