

牛奶中尿素氮（MUN）含量（酶法）检测试剂盒说明书

（货号：G0446W 微板法 96 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 12mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 B	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂 C	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 0.5mL×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 3mL×1 瓶	4°C保存	
试剂三	试剂三 A 1.5mL×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 46μL 的试剂三 B，混匀备用。
标准管	粉体 mg×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：

酶标仪、96 孔板、天平、水浴锅、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 打开酶标仪，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 96 孔板中依次加入：

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	20		
蒸馏水		20	
标准品			20
试剂一	10	10	10
蒸馏水	130	130	130
混匀，37°C避光反应 15min			
试剂二	20	20	20
试剂三	20	20	20
混匀，37°C避光反应 20min，于 625nm 处读取吸光值 A， ΔA=A 测定-A 空白。			

五、结果计算：

1、按液体体积计算：

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

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

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，0.02mL；

V 标---加入标准品体积，0.02mL；

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。