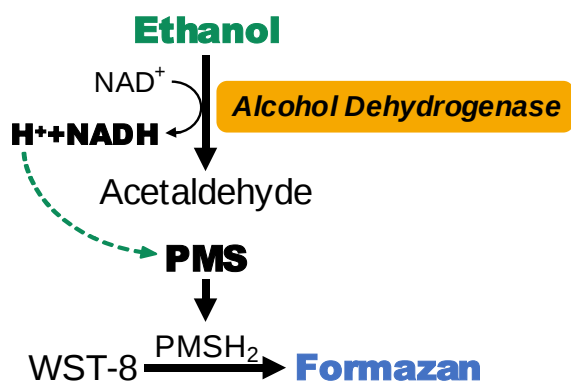




乙醇含量检测试剂盒

Ethanol Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



乙醇含量检测试剂盒

Ethanol Content Assay Kit

一、产品描述

乙醇在体内的代谢过程主要在肝脏中进行，在乙醇脱氢酶和乙醛脱氢酶的催化作用下生成乙酸，并进一步彻底代谢为二氧化碳和水，过度摄入乙醇会增加肝脏负担，可能会损害肝脏而引发酒精性肝炎、肝硬化等病变，此外乙醇含量测定在食品工业、安全监测以及环境保护等方面均具有重要意义。

乙醇脱氢酶可催化乙醇氧化脱氢生成乙醛，NAD 被还原为 NADH，NADH 在 1-mPMS 的作用下使 WST-8 显橙黄色，产物在 450 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测乙醇的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用说明及注意事项
试剂一	液体 12 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂二	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 6 mL 试剂三充分溶解 (分装后-20°C可保存一个月，避免反复冻融)
试剂三	液体 10 mL×1 瓶	4°C 保存	-
试剂四	液体 1.5 mL×1 支	4°C 保存	-

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿（光径 10 mm）/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器/多道移液器、台式离心机、恒温水浴/培养箱和蒸馏水。

1. 样本处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：蒸馏水体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴匀浆，8000 g 常温离心 10 min，取上清置于冰上待测。

②细菌或细胞：离心收集细菌或细胞至离心管内，按照细菌或细胞数量（ 10^4 个）：蒸馏水体积（mL）为（500-1000）：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 蒸馏水）处理样品，冰浴超声破碎（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 10 s，重复 30 次），8000 g 常温离心 10 min，取上清置于冰上待测。

③血清（浆）、培养液等液体样本：直接检测或适当稀释后再进行检测。

2. 测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm，蒸馏水调零。

②**检测工作液的制备（现用现配）**：使用前根据使用量按试剂一：试剂二：试剂四=10:5:1 的体积比配制，充分混匀即为检测工作液。

③在 96 孔板或微量玻璃比色皿中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μL)
待测样本	40
检测工作液	160

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 10 s 时（总时间）450 nm 处吸光值，记为 A1 测定；②37°C 准确反应 600 s，测定 610 s（总时间）时 450 nm 处吸光值，记为 A2 测定；③计算 $\Delta A = A2$ 测定 - A1 测定。

3. 乙醇含量计算

3.1 使用 96 孔板测定的计算公式 ($y=0.0254x+0.0072$, $R^2=0.9992$)

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{(\Delta A - 0.0072)}{0.0254 \times \text{Cpr}} = \frac{39.37 \times (\Delta A - 0.0072)}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{(\Delta A - 0.0072) \times V_{\text{样总}}}{0.0254 \times W} = \frac{39.37 \times (\Delta A - 0.0072)}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{(\Delta A - 0.0072) \times V_{\text{样总}}}{0.0254 \times \text{细菌或细胞数量}} = \frac{39.37 \times (\Delta A - 0.0072)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{(\Delta A - 0.0072)}{0.0254} = 39.37 \times (\Delta A - 0.0072)$$

注释：V 样总：待测样本总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

3.2 使用微量玻璃比色皿测定的计算公式 ($y=0.0508x+0.0072$, $R^2=0.9992$)

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{(\Delta A - 0.0072)}{0.0508 \times \text{Cpr}} = \frac{19.69 \times (\Delta A - 0.0072)}{\text{Cpr}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{(\Delta A - 0.0072) \times V_{\text{样总}}}{0.0508 \times W} = \frac{19.69 \times (\Delta A - 0.0072)}{W}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{(\Delta A - 0.0072) \times V_{\text{样总}}}{0.0508 \times \text{细菌或细胞数量}} = \frac{19.69 \times (\Delta A - 0.0072)}{\text{细菌或细胞数量}}$$

④按液体样本体积计算

$$\text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/mL}) = \frac{(\Delta A - 0.0072)}{0.0508} = 19.69 \times (\Delta A - 0.0072)$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；细菌或细胞数量：以万计。

四、注意事项

①准确在相应时间点完成吸光值测定，以确保实验结果的准确性和重复性；若使用 96 孔板需使用多道移液器且分批进行测定，以确保组内反应时间一致；

②若 ΔA 大于 0.3，建议将粗酶液适当稀释后再进行测定；若 ΔA 小于 0.02，建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；

③为保证结果准确且避免试剂损失，测定前请仔细阅读说明书（以实际收到说明书内容为准），确认试剂储存和准备是否充分，操作步骤是否清楚，且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.

Liaodong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

