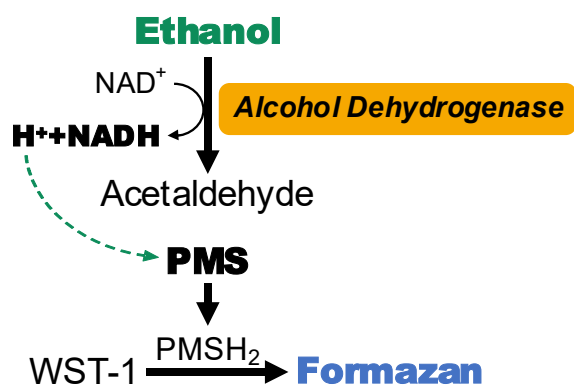




乙醇含量检测试剂盒

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，过度摄入乙醇会增加肝脏负担，损害肝脏引发酒精性肝炎、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-1 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
提取液 A	液体 110 mL×1 瓶	4°C 保存	-
提取液 B	液体 20 mL×1 瓶	4°C 保存	-
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 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂三	粉剂×1 瓶	-20°C 保存	使用前加入 2 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融)
试剂四	液体 4 mL×1 瓶	4°C 避光保存	-
试剂五	粉剂×1 支	-20°C 保存	使用前加入 0.4 mL 蒸馏水充分溶解 (分装后-20°C 可保存 1 个月，避免反复冻融)
标准液	液体 1 mL×1 支	4°C 保存	1000 μ mol/mL 乙醇标准液
标准应用液的制备（现用现配）：使用前将 1000 μ mol/mL 乙醇标准液使用蒸馏水稀释至 1.25 μ mol/mL 即为标准应用液。			

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：酶标仪、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. 待测样本的制备（可根据预实验结果适当调整样品量及比例）

①组织：按照组织质量（g）：提取液 A 体积（mL）为 1：（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴匀浆，4°C 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μ L 上清液至离心管中，加入 150 μ L 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4°C 12000 g 离心 10 min，取上清液于冰上待测。

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)：提取液 A 体积 (mL) 为 (500-1000)：1 的比例（建议 500 万细菌或细胞加入 1 mL 提取液 A）处理样品，冰浴超声破碎细菌或细胞（功率 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，总时间 5 min），4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μ L 上清液至离心管中，加入 150 μ L 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液于冰上待测。

③血清（浆）、培养基：吸取 100 μ L 液体样本加入 1 mL 提取液 A，4℃ 12000 g 离心 10 min，吸取 800 μ L 上清液至离心管中，加入 150 μ L 提取液 B 充分混匀至无气泡产生，4℃ 12000 g 离心 10 min，取上清液于冰上待测。

④其他液体样本：直接测定，若样本浑浊 4℃ 12000 g 离心 10 min 后取上清液，置于冰上待测。

注：提取液 B 加入后会产生大量气泡，应缓慢加入并吹打混匀至无气泡产生，建议使用 2 mL 离心管。

2.测定步骤

①酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 450 nm。

②试验前将试剂一置于 37℃ 预热 10 min 以上。

③试剂五工作液的制备（现用现配）：使用前根据使用量按试剂五：蒸馏水=1:99 的体积比配制。

④在 96 孔板中依次加入下列试剂：

试剂	测定组 (μ L)	标准组 (μ L)	空白组 (μ L)
待测样本	40	-	-
标准应用液	-	40	-
蒸馏水	-	-	40
试剂一	100	100	100
试剂二	10	10	10
试剂三	10	10	10
试剂四	30	30	30
试剂五工作液	10	10	10

吸光值测定：①充分混匀并立即开始计时，测定 15 s（总时间）时 450 nm 处吸光值，记为 A1 测定、A1 标准和 A1 空白；②37℃ 准确反应 600 s，测定 615 s（总时间）时 450 nm 处吸光值，记为 A2 测定、A2 标准和 A2 空白；③计算 A 测定=A2 测定-A1 测定，A 标准=A2 标准-A1 标准，A 空白=A2 空白-A1 空白， Δ A 测定=A 测定-A 空白， Δ A 标准=A 标准-A 空白。注：标准组和空白组只需测定 1-2 次。

3.乙醇含量计算

①按组织蛋白浓度计算

$$\text{乙醇含量} (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \frac{1.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times D}{\text{Cpr} \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.48 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\text{Cpr} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{乙醇含量} (\mu\text{mol}/\text{g}) = \frac{1.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{提A}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times D}{W \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.48 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{W \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

③按细菌或细胞数量计算

$$\text{乙醇含量} (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = \frac{1.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \times V_{\text{提A}} \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times D}{\text{cell} \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{1.48 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\text{cell} \times \Delta A_{\text{标准}}}$$

④按血清（浆）等液体体积计算

$$\text{乙醇含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = \frac{1.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \times (V_{\text{提A}} + V_{\text{液}}) \times (V_{\text{上清}} + V_{\text{提B}}) \times D}{V_{\text{液}} \times \Delta A_{\text{标准}} \times V_{\text{上清}}} = \frac{16.33 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

⑤按其他液体体积计算

$$\text{乙醇含量} (\mu\text{mol}/\text{mL}) = \frac{1.25 \times \Delta A_{\text{测定}} \times D}{\Delta A_{\text{标准}}}$$

注释： $V_{\text{上清}}$ ：提取时上清液的体积，0.8 mL； $V_{\text{提A}}$ ：加入的提取液 A 的体积，1 mL； $V_{\text{提B}}$ ：加入的提取液 B 的体积，0.15 mL； $V_{\text{液}}$ ：液体样本的体积，0.1 mL；1.25：标准应用液浓度，1.25 $\mu\text{mol}/\text{mL}$ ；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样本质量，g；cell：以万计，若 500 万细菌或细胞则代入 500 即可；D：待测样本稀释倍数，若未稀释则为 1。

四、注意事项

①准确在规定时间点完成吸光值测定，以确保检测结果的准确性和重复性；若同时测定多个样本时，应使用多道移液器且分批进行测定，以确保组间反应时间一致；

②若 ΔA 测定大于 0.8 或 A_{2} 测定大于 1.5，建议将待测样本使用蒸馏水适当稀释后再进行测定；若 ΔA 测定小于 0.01，建议制备更高浓度的样本后再进行测定，计算时相应修改；

③提取液中含有蛋白沉淀组分，待测样本不能用于蛋白含量测定；若使用蛋白浓度计算乙醇含量，则需要另取样本使用 PBS 或生理盐水按照相同步骤制备为待测样本，再进行蛋白浓度测定；

④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.

