

# 乙醇检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1877

保存：-20℃避光保存 6 个月

规格：48T/48S 96T/96S

适用样本：血清（浆）、尿液、动植物组织、细胞、细菌

## 产品简介

酒是含酒精（乙醇）饮料的统称，乙醇是酒的主要成分，是衡量酒质量的重要指标之一。乙醇可用于制造醋酸、饮料、香精、染料、燃料等，医疗上常用体积分数为 70%~75%的乙醇作消毒剂。乙醇在化学工业、医疗卫生、食品工业、农业生产等领域都有广泛的用途。本试剂盒提供了一种简单易用的方法，用于测量各种生物样本中乙醇含量。原理是乙醇脱氢酶催化乙醇脱氢生成乙醛，同时还原 NAD<sup>+</sup>生成 NADH 和 H<sup>+</sup>，在 1-mPMS 作用下，WST-8 可与 NADH 反应，产生橙黄色水溶性 formazan，其在 450nm 处有最大吸收峰，据此可计算乙醇含量。

## 产品内容

试剂盒组分	规格		储存条件
	48T	96T	
试剂一	120μ L	240μ L	-20℃保存
试剂二	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	-20℃保存
试剂三	10mL	20mL	4℃
试剂四	0.75mL	1.5mL	4℃避光保存
乙醇标准品	0.5mL	0.5mL	4℃

## 自备耗材

酶标仪或可见分光光度计（能测 450nm 处的吸光度）

96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头

恒温箱、离心机、制冰机

去离子水

匀浆器（如果是组织样本）

## 试剂准备

试剂一：即用型；整个实验过程中，冰上避光放置；-20℃保存。

试剂二：临用前 48T 加入 3mL 试剂三，96T 加入 6mL 试剂三充分溶解待用，用不完的试剂分装后-20℃保存；避免反复冻融。

试剂三：即用型；使用前，平衡到室温；4℃保存。

试剂四：即用型；使用前，平衡到室温；4℃避光保存。

工作液的配制：每孔配制 160μL 工作液，根据样本数量计算需配制工作液的量，现配现用。吸取 98μL 试剂三，2μL 试剂一，50μL 试剂二，10μL 试剂四混合。

标准曲线设置：临用前取 58.4μ L 标准品加入 941.6μ L 去离子水配成 1000μ mol/mL 的标准溶液，按下表所示用去离子水将 1000μ mol/mL 标准溶液稀释至 10、5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156μ mol/mL 的标准液。

	标准品体积	去离子水 (μL)	标准品浓度 (μ mol/mL)

## 产品说明书

Std. 1	10 $\mu$ L 1mg/mL 1000 $\mu$ mol/mL	990	10
Std. 2	200 $\mu$ L of Std. 1	200	5
Std. 3	200 $\mu$ L of Std. 2	200	2.5
Std. 4	200 $\mu$ L of Std. 3	200	1.25
Std. 5	200 $\mu$ L of Std. 4	200	0.625
Std. 6	200 $\mu$ L of Std. 5	200	0.313
Std. 7	200 $\mu$ L of Std. 6	200	0.156

**注意：小管试剂开盖前，请先低速离心。每次实验，请使用新配制的标准品。**

### 样本制备

动植物组织：称取 0.1g 样本，加入 1mL 去离子水，冰上匀浆。转移至 EP 管中，8,000g 25℃ 离心 10min，取上清待测。

细胞或细菌：收集  $5 \times 10^6$  个细胞或细菌，用冷 PBS 清洗细胞或细菌后弃上清，加入 1mL 预冷的去离子水，冰浴超声波破碎细胞和细菌 5min（功率 20% 或 200W，超声 3s，间隔 7s，重复 30 次）。8,000g 25℃ 离心 10min，取上清待测。

血清、血浆、尿液（和其它生物学液体）：直接测定。

**注意：推荐使用新鲜样本，如果不立即进行实验，样本可在 -80℃ 保存 6 个月。如需测定蛋白浓度，推荐使用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行样本蛋白质浓度测定。**

### 实验步骤

1. 酶标仪或可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长到 450nm，可见分光光度计用去离子水调零。
2. 将工作液 37℃ 预热 10min 以上。
3. 在 96 孔板或微量玻璃比色皿中按照如下方式加样：

试剂 ( $\mu$ L)	测定	标准	空白
样本	40	0	0
标准品	0	40	0
去离子水	0	0	40
工作液	160	160	160

混匀后记录 450nm 处吸光值  $A_1$ ，37℃ 避光孵育 10min 后的吸光值  $A_2$ 。计算  $\Delta A_{\text{测}} = A_2_{\text{测定}} - A_1_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_2_{\text{标准}} - A_2_{\text{空白}}$ 。空白和标准曲线只要做一即可。

**注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果  $\Delta A_{\text{测定}}$  小于 0.005 可适当加大提取用样本量。如果  $\Delta A_{\text{测定}}$  大于 1.0 或者  $A_1_{\text{测定}}$  大于 1.5，样本可用去离子水进一步稀释后再测定，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。**

### 结果计算

#### 1. 标准曲线的绘制

以标准液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$  为 x 轴，绘制标准曲线（浓度为 y 轴更方便计算结果）。将  $\Delta A_{\text{测}}$  带入方程计算出 y ( $\mu$  mol/mL)。

#### 2. 样本乙醇含量计算

(1) 按样本质量计算：

乙醇含量 ( $\mu$  mol/g 质量) =  $(y \times V_{\text{样}}) \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div W \times n$

(2) 按血清（浆）等液体积计算：

乙醇含量 ( $\mu$  mol/mL) =  $(y \times V_{\text{样}}) \div V_{\text{样}} \times n = y \times n$

(3) 按照细菌或细胞数量计算：

乙醇含量 ( $\mu$  mol/ $10^4$  Cells) =  $(y \times V_{\text{样}}) \div (500 \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div 500 \times n$

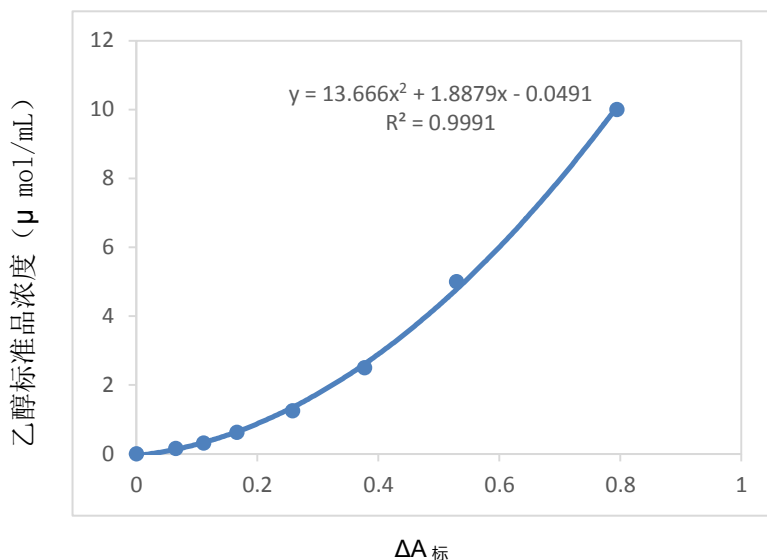
## 产品说明书

(4) 按蛋白浓度计算:

$$\text{乙醇含量} (\mu \text{ mol/mg prot}) = (y \times V_{\text{样}}) \div (\text{Cpr} \times V_{\text{提}}) \times n = y \div \text{Cpr} \times n$$

$V_{\text{样}}$ : 加入的样本体积, 0.04mL;  $V_{\text{提}}$ : 加入提取液体积, 1mL;  $W$ : 样本质量, g;  $n$ : 稀释倍数; 500: 细菌或细胞数量, 500 万;  $\text{Cpr}$ : 样本蛋白浓度, mg/mL。

### 结果展示



### 注意事项

1. 实验过程中请穿戴实验服、口罩和乳胶手套。请按照生物实验室的国家安全规定进行实验, 尤其是在检测血样或其他体液时。
2. 本试剂盒仅用于实验室科学研究, 如果本试剂盒用于临床诊断或任何其他用途, 我们将不对任何后果负责。
3. 本试剂盒应在有效期内使用, 并请严格按照说明书进行存储。
4. 不同批次号、不同厂家之间的组分不要混用; 否则, 可能导致结果异常。
5. 勤换吸头, 避免各组分之间的交叉污染。

#### 相关产品:

PMK1007 乙醇脱氢酶 (ADH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1010 乙醛脱氢酶 (ALDH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1040 丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (微量法)

更多产品详情了解, 请关注公众号:

