

乙醇检测试剂盒（微量法）

货号：PMK1877BKM

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⁺生成 NADH 和 H⁺，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	120 μL	240 μL	-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 58.4 μL 标准品加入 941.6 μL 去离子水配成 1000 μmol/mL 的标准溶液，按下表所示用去离子水将 1000 μmol/mL 标准溶液稀释至 10、5、2.5、1.25、0.625、0.313、0.156 μmol/mL 的标准液。

	标准品体积	去离子水（μL）	标准品浓度（μmol/mL）
--	-------	----------	----------------

Std. 1	10μL 1mg/mL 1000 μmol/mL	990	10
Std. 2	200μL of Std. 1	200	5
Std. 3	200μL of Std. 2	200	2.5
Std. 4	200μL of Std. 3	200	1.25
Std. 5	200μL of Std. 4	200	0.625
Std. 6	200μL of Std. 5	200	0.313
Std. 7	200μL 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 5×10^6 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 (μL)	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 $\Delta A_{\text{测}} = (A_{2\text{测定}} - A_{1\text{测定}}) - (A_{2\text{空白}} - A_{1\text{空白}})$ ， $\Delta A_{\text{标}} = (A_{2\text{标准}} - A_{1\text{标准}}) - (A_{2\text{空白}} - A_{1\text{空白}})$ 。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 (μmol/mL)。

2. 样本乙醇含量计算

(1) 按样本质量计算：

乙醇含量 (μmol/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）等液体体积计算：

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

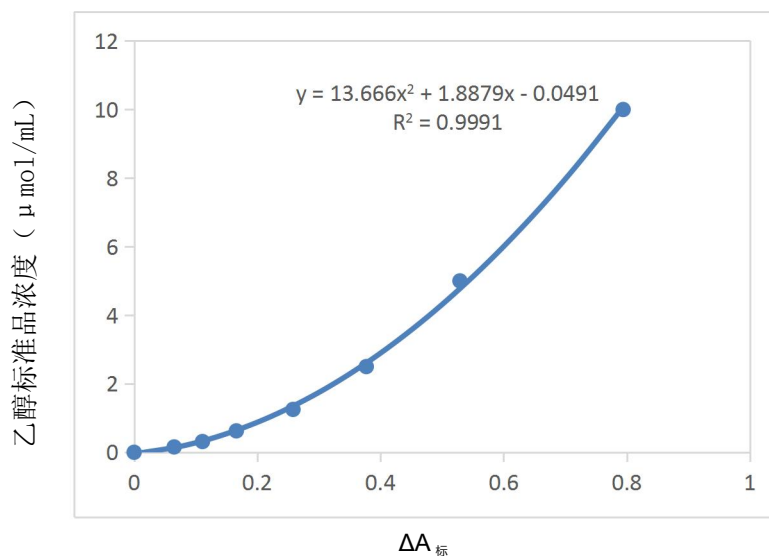
产品说明书

(4) 按蛋白浓度计算:

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

$V_{\text{样}}$: 加入的样本体积, 0.04mL; $V_{\text{提取}}$: 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; 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:

PMK1007BKM 乙醇脱氢酶 (ADH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1010BKM 乙醛脱氢酶 (ALDH) 检测试剂盒 (微量法)

PMK1040BKM 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:

