

## 乙醇(ethanol)含量试剂盒(酶法)(微板法)

产品货号：BA3399

产品规格：96样

### 产品简介：

乙醇在自然界中无处不在，如食品，果实，酒类，药品，化妆品等；本试剂盒利用乙脱氢酶使乙醇转化为乙醛，同时伴随NADH生成；由于乙醇脱氢酶利于乙醇的生成而不是分解，本试剂盒额外添加特异试剂使乙醇脱氢酶能够彻底分解乙醇，进一步通过检测NADH在340nm的上升量计算出样本中乙醇含量。

### 产品内容：

产品名称	规格	保存条件	注意事项
试剂一	液体1支	-20°C	1. 临用前8000g 4°C离心2mim使试剂落入管底（可手动甩一甩）； 2. 加入1.1mL蒸馏水溶解，可-20°C分装保存，禁止反复冻融。
试剂二	粉剂1支	2-8°C	1. 临用前8000g 4°C离心2mim使试剂落入管底； 2. 加入1.1mL蒸馏水溶解备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。
试剂三	液体20mL×1瓶	2-8°C	
试剂四	液体1支	-20°C	1. 临用前8000g 4°C离心2mim使试剂落入管底； 2. 加入0.6mL蒸馏水混匀备用； 3. 保存周期与试剂盒有效期相同。

### 实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、96孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

### 指标测定：

建议先选取1-3个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

#### 1. 样本提取：

① 称取约 0.2g 组织（水分含量高的样本可取约 0.5g），加入 1mL 蒸馏水，进行冰浴匀浆，12000rpm，室温离心 10min，取上清液待测。（若组织样本蛋白含量很高，可进行脱蛋白处理）

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 5~10: 1 的比例进行提取。

#### ② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水，在 4°C 或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4°C 约 12,000rpm 离心 10min，取上清作为待测样品。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量( $10^4$ ):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

③ 液体样品：澄清的液体样本直接检测，若浑浊则离心后取上清液检测。

#### 2. 检测步骤：

① 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm。

② 所有试剂解冻至室温（25°C）或水浴锅（25°C）孵育 15-20min。



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

扫一扫 加微信

③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂组分 (μL)	测定管
样本	10
试剂一	10
试剂二	10
试剂三	165
混匀, 室温 (25°C) 孵育 10min, 于 340nm 处 读取 A1 值	
试剂四	5
混匀, 室温 (25°C) 反应 30min, 于 340nm 处读 取 A2 值, $\Delta A = A2 - A1$ 。	

【注】若 $\Delta A$  的值在零附近徘徊, 可以增加样本量 V1 (相应的试剂三减少) 或样本准备制备的时候, 增加样本质量 W, 则改变后的 V1 或 W 需代入计算公式重新计算。

### 结果计算：

1. 按照样品质量计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_2 \times M_r \times 10^6] \div (W \times V_1 \div V) \div 2 = 148.14 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_2 \times M_r \times 10^6] \div (500 \times V_1 \div V) \div 2 = 148.14 \times \Delta A \div 500$$

3. 按照液体体积计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_2 \times M_r \times 10^6] \div V_1 \div 2 = 148.14 \times \Delta A$$

4. 按照蛋白浓度计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/mg prot}) = [\Delta A \div (\varepsilon \times d) \times V_2 \times M_r \times 10^6] \div (C_{pr} \times V_1 \div V) \div 2 = 148.14 \times \Delta A \div C_{pr}$$

$\varepsilon$ ---NADH 摩尔消光系数,  $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ;  $d$ ---光径,  $0.5 \text{ cm}$ ;  $V$ ---加入提取液体积,  $1 \text{ mL}$ ;  $V_1$ ---加入反应体系中样本体积,  $0.01 \text{ mL}$ ;  $V_2$ ---反应总体积,  $2 \times 10^4 \text{ L}$ ;  $M_r$ ---乙醇分子量,  $46.07$ ;  $W$ ---样本质量,  $\text{g}$ ;  $2$ ---1 分子乙醇产生 2 分子 NADH;  $500$ ---细胞数量,  $\text{万}$ ;  $C_{pr}$ ---蛋白浓度 ( $\text{mg/mL}$ ) ;

建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信