

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℃	1. 临用前8000g 4℃离心2min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℃分装保存,禁止反复冻融。
试剂二	粉剂1支	2-8℃	1. 临用前8000g 4℃离心2min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℃	
试剂四	液体1支	-20℃	1. 临用前8000g 4℃离心2min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℃或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4℃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℃)或水浴锅(25℃)孵育15-20min。



扫一扫 加微信

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

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.com

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 ΔA 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：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \div 2 = 148.14 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \div 2 = 148.14 \times \Delta A \div 500$$

3. 按照液体体积计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div V1 \div 2 = 148.14 \times \Delta A$$

4. 按照蛋白浓度计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (Cpr \times V1 \div V) \div 2 = 148.14 \times \Delta A \div Cpr$$

ϵ ---NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； d ---光径， 0.5 cm ； V ---加入提取液体积， 1 mL ； $V1$ ---加入反应体系中样本体积， 0.01 mL ； $V2$ ---反应总体积， $2 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； Mr ---乙醇分子量， 46.07 ； W ---样本质量， g ； 2 ---1 分子乙醇产生 2 分子 NADH； 500 ---细胞数量，万； Cpr ---蛋白浓度 (mg/mL)；
建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒。



扫一扫 加微信

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