

## 乙醇(ethanol)含量试剂盒(酶法)(紫外法)

产品货号: BA3400

产品规格: 48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;本试剂盒利用乙醇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;<br>2. 加入1.6mL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;<br>2. 加入1.8mL蒸馏水溶解备用;<br>3. 保存周期与试剂盒有效期相同。 |
| 试剂三  | 液体32mL×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;<br>2. 加入1.1mL蒸馏水混匀备用;<br>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)、1ml石英比色皿、离心管、紫外分光光度计、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,以免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:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

QQ: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- ① 紫外分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零。
- ② 所有试剂解冻至室温（25℃）或水浴锅（25℃）孵育 15-20min。
- ③ 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

| 试剂组分（μL）                                                    | 测定管 |
|-------------------------------------------------------------|-----|
| 样本                                                          | 30  |
| 试剂一                                                         | 30  |
| 试剂二                                                         | 30  |
| 试剂三                                                         | 635 |
| 混匀，室温（25℃）孵育 10min，于 340nm 处读取 A1                           |     |
| 试剂四                                                         | 15  |
| 混匀，室温（25℃）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：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (W \times V1 \div V) \div 2 = 91.35 \times \Delta A \div W$$

2. 按细胞数量计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (500 \times V1 \div V) \div 2 = 91.35 \times \Delta A \div 500$$

3. 按照液体体积计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/mL}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div V1 \div 2 = 91.35 \times \Delta A$$

4. 按照蛋白浓度计算：

$$\text{乙醇含量}(\mu\text{g/mg prot}) = [\Delta A \div (\epsilon \times d) \times V2 \times Mr \times 10^6] \div (Cpr \times V1 \div V) \div 2 = 91.35 \times \Delta A$$

$\epsilon$ ---NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L/mol/cm}$ ； $d$ ---光径，1cm； $V$ ---加入提取液体积，1mL； $V1$ ---加入反应体系中样本体积，0.03mL； $V2$ ---反应总体积， $7.4 \times 10^{-4} \text{ L}$ ； $Mr$ ---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

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>