

乙醇(ethanol)含量试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号：JL-T1275

有效期：6个月

规格：48T(20S)/96T(44S)

保存温度：2-8℃和-20℃

实验原理:

酒精(乙醇 C_2H_5OH)是最广泛使用的饮料之一, 低剂量的酒精可能有助于血液循环, 而大量饮酒可能导致各种疾病, 血液中乙醇含量测定是酒精中毒的重要判断依据, 通过对摄入酒精后血中乙醇含量的测定, 可方便迅速地监测和研究乙醇在体内的代谢过程, 从而为预防和减轻酒精中毒的研究提供相应的指标和依据。乙醇在乙醇脱氢酶的催化下氧化脱氢生成乙醛, 同时, NAD^+ 被还原生成 $NADH$, $NADH$ 在递氢物质的作用下使 WST-8 显橙黄色, 通过 $450nm$ 下测定吸光值变化可测得乙醇含量。

检测范围: $0.33-6.998\mu mol/mL$ **灵敏度:** $0.33\mu mol/mL$

注意事项:

1. 不能使用过期产品, 不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用, 以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病, 所有的样品都应管理好, 按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存, 不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂, 使用前请先离心, 以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂, 使用前请甩几下, 使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/20S)	规格 (96T/44S)	保存条件
试剂一	15 μ L \times 1 支	15 μ L \times 2 支	-20 $^{\circ}$ C, 避光
试剂二	粉剂 \times 1 瓶	粉剂 \times 2 瓶	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
试剂三	10mL \times 1 瓶	10mL \times 1 瓶	2-8 $^{\circ}$ C
试剂四	1.2mL \times 1 瓶	1.2mL \times 2 瓶	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
标准品	0.5mL \times 1 支	0.5mL \times 2 支	2-8 $^{\circ}$ C, 避光

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**, 建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定, 根据预实验的结果, 结合本试剂盒的线性范围: 0.33-6.988 μ mol/mL, 如果样品中待测物浓度过高或过低, 请对样本做适当的稀释或浓缩, 样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中, 建议做预实验验证其检测有效性。

3. **组织样本**：按照组织质量(g)：蒸馏水体积(mL)为 1:5~10 的比例(建议称取约 0.1g 组织, 加入 1mL 蒸馏水)冰浴匀浆, 10000 g, 4°C离心 10min, 取上清, 即粗酶液。
4. **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; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个) : 蒸馏水体积 (mL) 为 500~1000:1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水), 超声波破碎细菌或细胞 (冰浴, 功率 20% 或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次); 10000 g, 4°C离心 10min, 取上清, 置冰上待测。
5. **血清 (浆) 等液体样本**：澄清液体直接测定, 若浑浊则离心后取上清液检测。

检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. 试剂一：临用前加入蒸馏水，稀释 1000 倍，按需配制，配制完成请在十分钟内使用。
3. 试剂二：临用前取一瓶加入 3mL 试剂三充分溶解待用，现配现用。
4. 工作液的配制：如样本量多，可配制工作液混合加入。临用前按试剂一：试剂二：试剂四=100:50:20 的体积比例配制。（一枪加 170 μ L 该混合液)(该混合液用多少配多少，现配现用)。
5. **标准品溶液的配制：**取标准品 5.85 μ L 加入 994.15 μ L 蒸馏水稀释为 100 μ mol/mL 标准品，再取 200 μ L，100 μ mol/mL 标准品加入 1800 μ L 蒸馏水稀释为 10 μ mol/mL 标准品，按照下面的梯度加，现配现用，按需配制，4 小时内使用完。按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液：0 μ mol/mL、1 μ mol/mL、2 μ mol/mL、3 μ mol/mL、4 μ mol/mL、5 μ mol/mL、6 μ mol/mL、7 μ mol/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)	0	1	2	3	4	5	6	7
10 $\mu\text{mol/mL}$ 标准品(μL)	0	40	80	120	160	200	240	280
蒸馏水(μL)	400	360	320	280	240	200	160	120

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 450nm。
2. 样本测定 (在 96 孔板中依次加入) :

试剂名称(μL)	标准孔	测定孔
不同浓度标准品	30	
样本		30
试剂一	100	100
试剂二	50	50
试剂四	20	20

混匀后记录 450nm 下测定初始吸光值 A_1 , 和 37°C 避光孵育 10min 后的吸光值 A_2 , 计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

实验结果结算：

1. **标准品拟合曲线：** $y=ax+b$ 。

2. **按照血清（浆）体积计算：**

乙醇含量($\mu\text{mol/mL}$)= $(\Delta A-b)\div a\times N$

3. **按照样品质量计算：**

乙醇含量($\mu\text{mol/g}$ 鲜重)= $(\Delta A-b)\div a\div W\times N$

4. **按照细菌或细胞密度计算：**

乙醇含量($\mu\text{mol}/10\text{cell}$)= $(\Delta A-b)\div a\div (500\div V)\times N$

注：

ΔA : A_2-A_1

V: 样本匀浆体积, mL

N: 样本的稀释倍数

500: 细胞样本的数量, 万

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

W: 样本质量, g

x: 标准品的浓度

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

参考样本数据：

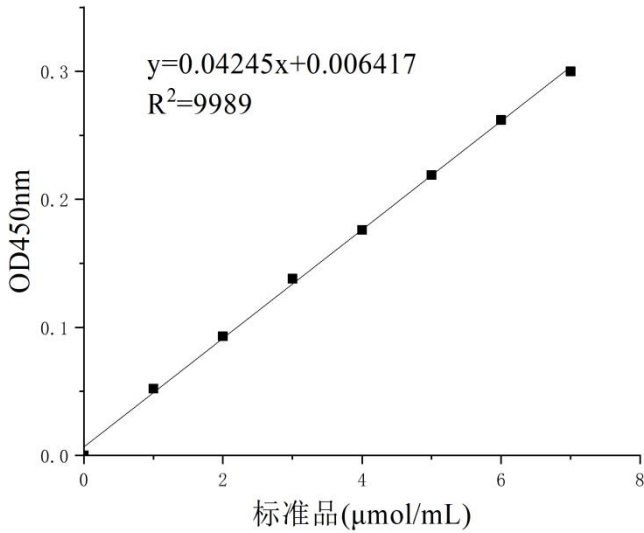
以下数据仅供参考：

样本类型	稀释倍数	参考值
啤酒	100 倍稀释	612.833 μ mol/mL
鸡尾酒	200 倍稀释	722.333 μ mol/mL
料酒	500 倍稀释	1979 μ mol/mL

参考曲线:

$y=0.0631x+0.0054$, $R^2=0.9992$, x 是标准品浓度($\mu\text{mol/mL}$), y 是 ΔA 。

$\Delta A=A_2-A_1$, 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

Note:

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com