

CheKine™ 乙醇含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3031

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本: 动植物组织、细菌和细胞、血清（浆）或其他液体
	保质期: -20℃, 避光保存 6 个月

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是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 1-mPMS 的作用下使 WST-8 显橙黄色，通过 450 nm 下测定吸光值变化可测得乙醇含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	6 mL	12 mL	4℃, 避光保存
Reagent II	Powder×1 vial	Powder×1 vial	-20℃, 避光保存
Reagent III	5 mL	10 mL	4℃
Reagent IV	0.75 mL	1.5 mL	4℃, 避光保存
Standard	1 mL	1 mL	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 450 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水/PBS	试剂配制用/样本清洗用
其他	匀浆器或研钵（组织样本）、水浴锅、离心机、 可调式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
Reagent II	临用前配制；48 T 加入 3 mL Reagent III，96 T 加入 6 mL Reagent III	充分溶解，未用完的试剂-20℃避光分装保存 1 个月，避免反复冻融
Reagent III	即用型；使用前平衡到室温	4℃保存
Reagent IV	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存；Reagent IV 有一定的刺激性，建议在使用过程中做好个人防护
Standard	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
5 μmol/mL Standard	临用前取 58.4 μL Standard 加入 941.6 μL 去离子水配成 1000 μmol/mL 的标准溶液。再取 50 μL 1000 μmol/mL 的标准溶液加入 950 μL 去离子水配成 50 μmol/mL 的标准溶液；再取 100 μL 50 μmol/mL 的标准溶液加入 900 μL 去离子水配成 5 μmol/mL 的标准溶液用于下述标准孔的测定。	4 小时内使用

05-2 样本制备

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 1 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水，冰浴匀浆，8000 g，室温离心 10 min，取上清液待测。

- **细胞或细菌：**收集 5×10^6 个细胞或细菌到离心管内，用冷 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL 去离子水，冰浴超声波破碎细胞 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），然后 8000 g，室温离心 10 min，取上清液待测。
- **血清（浆）等液体样本：**直接测定。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备：**预热 30 min 以上，调节波长到 450 nm。
2. **Working Reagent 的配制：**每孔准备 160 μ L Working Reagent，现配现用。吸取 100 μ L Reagent I，50 μ L Reagent II 和 10 μ L Reagent IV，混合均匀。
3. **检测体系配制：**标准管只需做 1-2 次。在 96 孔板中按照如下方式操作：

试剂	标准孔（ μ L）	测定孔（ μ L）
样本	0	40
5 μ mol/mL Standard	40	0
Working Reagent	160	160

4. **吸光度检测：**充分混匀，测定 450 nm 处吸光值。记录初始和 37℃避光孵育 10 min 后的吸光值，分别记录为 A_1 和 A_2 。标准孔记为 $A_{标准}$ ，测定孔记为 $A_{测定}$ 。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A=A_2-A_1$ ， $\Delta A_{标准}=A_{2标准}-A_{1标准}$ ， $\Delta A_{测定}=A_{2测定}-A_{1测定}$

2. 样本乙醇含量计算

- 按样本蛋白浓度计算

$$\text{乙醇}(\mu\text{mol}/\text{mg prot})=[C_{标准} \times (\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}) \times V_{样}] \div (Cpr \times V_{样} \div V_{样总}) \times n=5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div Cpr \times n$$

- 按样本鲜重计算

$$\text{乙醇}(\mu\text{mol}/\text{g})=[C_{标准} \times (\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}) \times V_{样}] \div (W \times V_{样} \div V_{样总}) \times n=5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div W \times n$$

- 按细菌或细胞数量

$$\text{乙醇}(\mu\text{mol}/10^4)=[C_{标准} \times (\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}) \times V_{样}] \div (N \times V_{样} \div V_{样总}) \times n=5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \div N \times n$$

- 按样本体积计算

$$\text{乙醇}(\mu\text{mol}/\text{mL})=C_{标准} \times (\Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准}) \times n=5 \times \Delta A_{测定} \div \Delta A_{标准} \times n$$

$C_{标准}$ ：标准溶液的浓度，5 μ mol/mL； $V_{样}$ ：加入反应体系中的样本体积，0.040 mL； $V_{样总}$ ：提取时加入去离子水的体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；N：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ，N=500）；W：样本质量，g；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

示例-1: 取 0.1 g 牛肝, 按照测定步骤操作, 用 96 孔板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测定}}=A_{2\text{测定}}-A_{1\text{测定}}=0.932-0.629=0.303$, $\Delta A_{\text{标准}}=A_{2\text{标准}}-A_{1\text{标准}}=0.212-0.069=0.143$ 。按样本鲜重计算得: 乙醇($\mu\text{mol/g}$)= $5\times\Delta A_{\text{测定}}\div\Delta A_{\text{标准}}\div W\times n=105.94\ \mu\text{mol/g}$ 。

08 FAQ

- 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测定}}$ 过高或者过低怎么办?
如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 小于 0.001 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测定}}$ 大于 0.6, 样本可用去离子水进一步稀释, 计算结果乘以稀释倍数, 或减少提取用样本量, 再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3030	CheKine™ 乙醇脱氢酶 (ADH) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1110	CheKine™ 乳酸脱氢酶 (LDH) 活性检测试剂盒 (微量法)
KTB1100	CheKine™ 乳酸含量检测试剂盒 (微量法)

CheKine™ 乙醇含量检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB3031)

