



乙醇含量检测试剂盒

Ethanol Assay Kit

可见分光光度法

产品编号：AK380V

产品规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK380-A	30 mL×1 瓶	4℃保存；
AK380-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；临用前加入 15 mL AK380-C 充分溶解待用，剩余试剂分装后-20℃保存；禁止反复冻融
AK380-C	20 mL×1 瓶	4℃保存；
AK380-D	3mL×1 管	4℃避光保存；
AK380-标准品 (5mmol/L)	1 mL×1 支	4℃保存；临用前取适量用蒸馏水稀释 10 倍配制成 0.5 mmol/L 的标准溶液备用，现用现配，4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：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。我国是世界上最早发明酿酒的国家，也是酒类产品消费大国，其消费量居世界之首。因此，快速、准确测定酒中乙醇含量，对于确保酒的质量和消费者的健康具有重大意义。

原理：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。

自备用品：

可见分光光度计、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器、1mL 玻璃比色皿、冰和蒸馏水。

FDH 提取：

1. 组织：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），进行匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清待测。
2. 血清（浆）等液体样品：直接测定。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 450nm。
2. 临用前按照样本数量，按以下比例配制工作液：AK380-A : AK380-B : AK380-D = 10 : 5 : 1
3. 样本测定（按下表在比色杯中加入如下试剂）

试剂名称	测定管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
样本	200		
标准溶液		200	
蒸馏水			200
工作液	800	800	800
混匀后记录450nm下测定初始吸光值A1，和37℃避光孵育10min后的吸光值A2。ΔA测定=A2测定管-A1测定管，ΔA标准=A2标准管-A1标准管，ΔA空白=A2空白-A1空白管，（空白管、标准管只需做1-2次）。			

乙醇含量计算：

1. 按样本质量计算

$$\text{乙醇含量 (mmol/g 质量)} = (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标准}} \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times F \\ = 0.5 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times F$$

2. 按液体体积计算

$$\text{乙醇含量 (mmol/L)} = 0.5 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times C_{\text{标准}} \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times F$$

C 标准：标准管浓度，0.5mmol/L；V 样总：上清液总体积，1mL；V 样：加入反应体系中上清液体积，200μL=0.2mL；

W：样本质量，g；F：稀释倍数。

注意事项：

1. 如果测定吸光值 $\Delta A > 0.6$ ，建议稀释样本后再测定，计算公式中乘以稀释倍数；如果测定吸光值较低或接近空白 OD 值，建议增加样本的加入量或者延长反应时间后再进行测定。
2. 建议一次测定不要测定过多样本以免耽误过多的酶促反应时间。