



## 乙醇含量检测试剂盒

### Ethanol Assay Kit

微量法

产品编号: AK380M

产品规格: 100T/96S

产品组成及保存条件:

| 编号                     | 规格        | 储存条件                                                      |
|------------------------|-----------|-----------------------------------------------------------|
| AK380-A                | 12 mL×1 瓶 | 4℃保存                                                      |
| AK380-B                | 粉剂×1 瓶    | -20℃保存; 临用前加入 6 mL AK380-C 充分溶解待用, 剩余试剂分装后-20℃保存          |
| AK380-C                | 10 mL×1 瓶 | 4℃保存                                                      |
| AK380-D                | 1.5mL×1 支 | 4℃避光保存                                                    |
| AK380-标准品<br>(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:**

分光光度计/酶标仪、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、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/酶标仪预热 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 96 孔板中加入如下试剂)

| 试剂名称 | 测定管 (μL) | 标准管 (μL) | 空白管 (μL) |
|------|----------|----------|----------|
| 样本   | 40       |          |          |
| 标准溶液 |          | 40       |          |
| 蒸馏水  |          |          | 40       |
| 工作液  | 160      | 160      | 160      |

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。Δ A测定=A2测定管-A1测定管, Δ A标准=A2标准管-A1标准管, Δ A空白=A2 空白-A1 空白管, (空白管、标准管只需做 1-2 管)。

### 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

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

C 标准: 标准管浓度, 0.5 mmol/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, 40μL=0.04mL;

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。