

使用说明书

Instruction Manual

乙醇含量检测试剂盒（微量法）

Ethanol Assay Kit (Microanalysis)

产品描述

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保护消费者的健康具有重大意义。

检测原理

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。

产品组成及储存条件

100T/96S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0070M-A	12mL×1 瓶	4℃保存。
CB0070M-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；临用前加入 6mL CB0070M-C 充分溶解待用，剩余试剂分装后-20℃保存。
CB0070M-C	10mL×1 瓶	4℃保存。
CB0070M-D	1.5mL×1 支	4℃避光保存。
CB0070M-Standard (5mmol/L)	1mL×1 支	4℃保存；临用前取适量用蒸馏水稀释 10 倍配制成 0.5mmol/L 的标准溶液备用，现用现配，4℃保存。

注：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

操作说明

一、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。

二、FDH 提取：

- 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。
- 血清（浆）等液体样品：直接测定。

三、测定步骤：

- 分光光度计/酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 450nm。
- 临用前按照样本数量，按以下比例配制工作液：CB0070M-A：CB0070M-B：CB0070M-D = 10：5：1。
- 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°C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。

注：空白管、标准管只需做 1-2 管

四、乙醇含量计算：

1. 按样本质量计算

乙醇含量 (mmol/g 质量) = (ΔA 测定-ΔA 空白) × C 标准 ÷ (ΔA 标准-ΔA 空白) × V 样 ÷ (V 样 ÷ V 样总 × W) × F
= 0.5 × (ΔA 测定-ΔA 空白) ÷ (ΔA 标准-ΔA 空白) ÷ W × F

2. 按液体体积计算

乙醇含量 (mmol/L) = (ΔA 测定-ΔA 空白) × 0.5 ÷ (ΔA 标准-ΔA 空白) × F

注：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 ΔA > 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。
3. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

