

使用说明书

Instruction Manual

乙醇含量检测试剂盒（可见分光光度法）

Ethanol Assay Kit (Visible Spectrophotometry)

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

50T/48S 规格的产品组成如下：

组成	规格	储存条件
CB0070V-A	30mL×1 瓶	4℃保存。
CB0070V-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；临用前加入 15mL CB0070V-C 充分溶解待用，剩余试剂分装后-20℃保存；禁止反复冻融。
CB0070V-C	20mL×1 瓶	4℃保存。
CB0070V-D	3mL×1 管	4℃避光保存。
CB0070V-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：

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。

二、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。

三、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：CB0070V-A：CB0070V-B：CB0070V-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。

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

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

$$= 0.5 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times F$$

2. 按液体体积计算

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

注：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。
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。

