

乙醇含量测定试剂盒说明书

可见分光光度法 50管/48样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

乙醇俗称酒精，是最常见的一元醇，在检测酒的质量、分析血液乙醇含量和果蔬品质判断中通常需要频繁、大量地检测乙醇含量。

- 1.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。
- 2.乙醇是中枢神经系统最基本的抑制物，如果乙醇被大量摄入，会不可逆抑制呼吸甚至导致死亡，血液中乙醇检测结果通常作为认定是否酒后驾驶或醉酒驾驶的依据。
- 3.乙醇是判断储藏过程中果蔬品质变化的重要指标，研究表明，适当的乙醇处理能够减少腐烂和减轻果蔬生理病害、延缓果蔬成熟和衰老进程，从而延长货架寿命。因此，简便、准确和快速测定果蔬中乙醇含量具有非常重要的意义。

测定原理：

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。

组成：

产品名称	CE022-50T/48S	Storage
试剂一：液体	30ml	4°C
试剂二：粉剂	1 瓶	-20°C
试剂三：液体	20 ml	4°C
试剂四：液体	3ml	4°C避光
说明书	一份	

试剂二：粉剂×1 瓶，-20°C保存；临用前加入 15 ml 试剂三充分溶解待用，用不完的试剂分装后-20°C保存，禁止反复冻融；

自备仪器和用品：

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



可见分光光度计、台式离心机、可调式移液器、1ml 玻璃比色皿、研钵、冰、蒸馏水。

乙醇提取：

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, 25°C离心 10min, 取上清待测。
2. 细菌或培养细胞：先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 按照细菌或细胞数量 (10^4 个) : 蒸馏水体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细菌或细胞加入 1ml 蒸馏水), 超声波破碎 (冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3s, 间隔 10s, 重复 30 次), 8000g, 25°C离心 10min, 取上清待测。
3. 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. 工作液的配制：临用前按照样本数量, 按以下比例配制工作液

试剂名称	体积 (μ l)
试剂一	500
试剂二	250
试剂四	50

3. 样本测定

按下表加入如下试剂

试剂名称	体积 (μ l)
样本	200
测定工作液	800

混匀后记录 450nm 下测定初始吸光值 A_1 , 和 37°C避光孵育 10min 后的吸光值 A_2 , 计算 $\Delta A = A_2 - A_1$ 。

乙醇含量计算：

标准条件下测定回归方程为 $y = 0.0512x + 0.0055$ $R^2 = 0.9991$;

x 为乙醇含量 (μ mol/ml), y 为吸光值差值 ΔA 。

1. 按照血清 (浆) 体积计算

$$\begin{aligned} \text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/ml}) &= (\Delta A - 0.0055) \div 0.0512 \\ &= 19.5 \times (\Delta A - 0.0055) \end{aligned}$$

2. 按照样品质量计算

$$\begin{aligned} \text{乙醇含量 } (\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.0055) \div 0.0512 \times V_1] \div (W \times V_1 \div V_2) \\ &= 19.5 \times (\Delta A - 0.0055) \div W \end{aligned}$$

3. 按照细菌或细胞密度计算

$$\begin{aligned} \text{乙醇含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A - 0.0055) \div 0.0512 \times V_1] \div (500 \times V_1 \div V_2) \\ &= 0.039 \times (\Delta A - 0.0055) \end{aligned}$$

V_1 : 加入反应体系中样本体积, 0.2ml; V_2 : 加入提取液体积, 1 ml; C_{pr} : 样本蛋白质浓度, mg/ml; W : 样本质量, g; 500: 细菌或细胞总数, 500 万;

注意事项：

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



测定前取 1-2 个样做预实验，若 $\Delta A > 0.6$ 或乙醇含量 $> 10\mu\text{mol/ml}$ ，需将样本用蒸馏水稀释后再测定，以确保测定的准确性。

最低检测限： $0.02\mu\text{mol/ml}$ 。

