

## 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 ( $\mu$ 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 ( $\mu$ 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 ( $\mu$ mol/ml),  $y$  为吸光值差值  $\Delta A$ 。

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



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线: 0518-81263339

官网: <http://www.bio149.com>

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： $0.02\mu\text{mol/ml}$ 。

