

乙醇含量检测试剂盒说明书

微量法

注意：本产品试剂有所变动，请注意并严格按照该说明书操作。

货号：BC5105

规格：100T/96S

产品内容：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系索莱宝工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1 支	-20℃保存
试剂二	液体 10 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三 A 液	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三 B 液	液体 5 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 0.5 mL×1 支	2-8℃保存

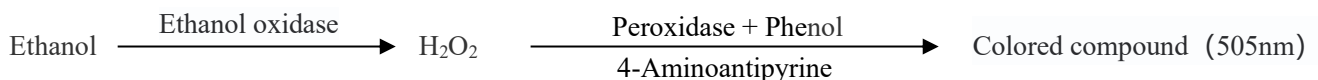
溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前取一支加入 50μL 无菌水溶解，可-20℃分装保存 2 周。
- 2、试剂一工作液：临用前根据实验所需用量，按照试剂一：蒸馏水=5μL：145μL（共 150μL，15T）的比例配制，现用现配。
- 3、试剂三：临用前根据实验所需用量，按照试剂三 A 液：试剂三 B 液=1:1 的比例，充分混匀，现用现配。
- 4、标准品：临用前取 50μL 和 350μL 蒸馏水混合配制成 2.14 mol/L 的标准溶液备用，现用现配。

产品说明：

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。乙醇可用于制造醋酸、饮料、香精、染料、燃料等,医疗上常用体积分数为 70%~75%的乙醇作消毒剂。乙醇在化学工业、医疗卫生、食品工业、农业生产等领域都有广泛的用途。

乙醇在乙醇氧化酶的催化下氧化产生过氧化氢。过氧化物酶催化过氧化氢氧化 4-氨基安替比林偶联酚,生成有色化合物,在 505nm 有特征吸收峰。测定 505nm 吸收峰的变化可以反应乙醇含量。



注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、研钵/匀浆器、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、冰、无菌水和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

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 0.1 g 组织，加入 1 mL 蒸馏水）进行冰浴匀浆，然后 8000 g，4℃，离心 10 min，取上清置于冰上待测。

2、液体：直接检测。若液体浑浊可离心后取上清检测。

二、测定步骤

1、分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm，分光光度计蒸馏水调零。

2、操作表：

试剂名称（ μL ）	测定管	标准管	空白管
试剂一工作液	10	10	10
试剂二	90	90	90
试剂三	90	90	90
样本	10	-	-
标准品	-	10	-
蒸馏水	-	-	10

充分混合后，立即测定 505nm 下的吸光值 A1，然后 37℃水浴中反应 60min，再测定反应 60min 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。（空白管、标准管只需做 1-2 管）。

若样本数量过多，可将试剂一工作液、试剂二、试剂三按比例配制成工作液使用。

三、乙醇含量计算

1、按样本质量计算

$$\begin{aligned} \text{乙醇含量 (mmol/g 质量)} &= (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \times F \\ &= 2.14 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \times F \end{aligned}$$

2、按液体体积计算

$$\begin{aligned} \text{乙醇含量 (mmol/L)} &= (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times F \times 1000 \\ &= 2140 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times F \end{aligned}$$

C 标准：标准管浓度，2.14 mol/L=2.14 mmol/mL；V 样总：上清液总体积，1mL；V 样：加入反应体系中上清液体积，10 μL =0.01mL；W：样本质量，g；F：稀释倍数；1000：换算系数，1mL=0.001L。

注意事项：

1、如果测定吸光值 $\Delta A > 0.5$ ，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，建议增加样本量后再进行测定。

2、若样本数量过多，可将试剂一、试剂二、试剂三按比例配制成工作液使用。

3、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。

实验实例：

1、称取 0.1g 小鼠肝脏，加入 1mL 蒸馏水冰浴匀浆，离心取上清后按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A2 测定管-A1 测定管=0.086-0.06=0.026， ΔA 标准=A2 标准管-A1 标准管=0.630-0.053=0.577， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白管=0.057-0.048=0.009，按样本质量计算含量得：

$$\text{乙醇含量 (mmol/g)} = 2.14 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \times F = 0.052 \text{ mmol/g}$$

2、取 10 μ L 香水，按照测定步骤操作，用 96 孔板测得计算 ΔA 测定=A2 测定管-A1 测定管=0.989-0.166=0.823，
 ΔA 标准=A2 标准管-A1 标准管=0.630-0.053=0.577， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白管=0.057-0.048=0.009，按样本
体积计算含量得：

$$\text{乙醇含量 (mmol/L)} = 2140 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times F = 3066.8 \text{ mmol/L}$$

相关系列产品：

BC0750/BC0755 乙醛脱氢酶（ALDH）活性检测试剂盒

BC1080/BC1085 乙醇脱氢酶（ADH）活性检测试剂盒

BC2230/BC2235 乳酸（LA）含量检测试剂盒