



## 乙醇含量检测试剂盒

### Ethanol Assay Kit

微量法

产品编号：AK380M

产品规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK380-A	12 mL×1 瓶	4℃保存
AK380-B	粉剂×1 瓶	-20℃保存；临用前加入 6 mL AK380-C 充分溶解待用，剩余试剂分装后-20℃保存
AK380-C	10 mL×1 瓶	4℃保存
AK380-D	1.5mL×1 支	4℃避光保存
AK380-标准品	0.5 mL×1 支	临用前取 1μL 和 33.24mL 蒸馏水混合配制成 0.5 μmol/L 的标准溶液备用，现用现配，4℃保存

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

**意义：**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消费者的健康具有重大意义。

**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。

自备用品：

酶标仪、台式离心机、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰、蒸馏水。

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，25℃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<sup>4</sup> 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℃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. 酶标仪预热 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：

AK380-A : AK380-B : AK380-D = 10 : 5 : 1

3. 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℃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，（空白管、标准管只需做1-2管）。

#### 乙醇含量计算：

##### 1、按样本质量计算

$$\text{乙醇含量} (\mu\text{mol/g 质量}) = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} + V \text{ 样总} \times W) \times F = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times 0.5 \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \times F$$

##### 2、按液体体积计算

$$\text{乙醇含量} (\mu\text{mol/mL}) = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times 0.5 \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times F$$

C 标准：标准管浓度，0.5 μmol/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，40μL=0.04mL；

W：样本质量，g；F：稀释倍数。

#### 注意事项：

1. 测定前取1-2个样做预实验，若ΔA>0.3或乙醇含量>10μmol/mL，需将样本用蒸馏水稀释后再测定，以确保测定值在线性范围内或准确性。
2. 最低检测限：0.02μmol/mL。