



乙醇含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

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：BC5100

规格：50T/48S

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×2 支	-20℃保存
试剂二	液体 30 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三 A 液	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂三 B 液	液体 15 mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	液体 0.5 mL×1 支	2-8℃保存

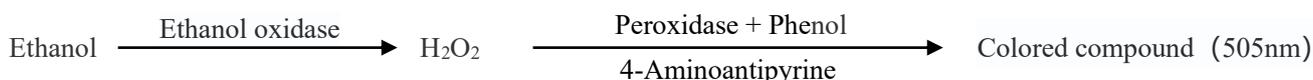
溶液的配制：

- 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=10μL：290μL（共 300μL，6T）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 10μL 和 310μL 蒸馏水混合配制成 0.535mol/L 的标准溶液，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、低温离心机、恒温培养箱/水浴锅、可调式移液器、研钵/匀浆器、1 mL 玻璃比色皿、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、分光光度计预热 30 min 以上，调节波长至 505 nm，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	50	50	50
试剂二	450	450	450
试剂三	450	450	450
样本	50	-	-
标准品	-	50	-
蒸馏水	-	-	50

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

$$\text{乙醇含量 (mmol/g 质量)} = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times V \text{ 样} \div (V \text{ 样} \div V \text{ 样总} \times W) \times F \\ = 0.535 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \times F$$

2. 按液体体积计算

$$\text{乙醇含量 (mmol/L)} = (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \times C \text{ 标准} \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times F \times 1000 \\ = 535 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times F$$

C 标准：标准管浓度，0.535 mol/L=0.535 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，50 μL =0.05mL；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，建议增加样本的加入量或者延长反应时间（2 小时或者更长时间）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 兔肝，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 1mL 比色皿测得计算 ΔA 测定=A2 测定管-A1 测定管=0.080-0.028=0.052， ΔA 标准=A2 标准管-A1 标准管=0.535-0.016=0.519， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白管=0.010-0.006=0.004，按样本质量计算含量得：

$$\text{乙醇含量 (mmol/g)} = 0.535 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \div W \times F \\ = (0.052 - 0.004) \times 0.535 \div (0.519 - 0.004) \div 0.1 \times 1 = 0.499 \text{ mmol/g}$$

2、取 50 μ L 香水，蒸馏水稀释 5 倍后按照测定步骤操作，用 1mL 比色皿测得计算 ΔA 测定=A2 测定管-A1 测定管=0.815-0.152=0.663， ΔA 标准=A2 标准管-A1 标准管=0.535-0.016=0.519， ΔA 空白=A2 空白-A1 空白管=0.010-0.006=0.004，按样本体积计算含量得：

$$\begin{aligned} \text{乙醇含量 (mmol/L)} &= 535 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times F \\ &= 535 \times (0.663 - 0.004) \div (0.519 - 0.004) \times 5 = 3423.0 \text{ mmol/L}. \end{aligned}$$

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