

乙醇含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0572	乙醇含量检测试剂盒 (分光光度计法)	50 管/48 样

产品内容

名称	规格	储存条件
试剂一	液体 × 1 支: 使用前按照试剂一: 蒸馏水=1 μ L: 1200 μ L 的比例进行稀释 (约 2T 的量), 现配现用。	-20 $^{\circ}$ C
试剂二	粉剂 × 1 瓶: 使用前加入 15mL 试剂三溶解, 用不完可分装保存于-20 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融。	-20 $^{\circ}$ C
试剂三	液体 20mL × 1 瓶	4 $^{\circ}$ C
试剂四	液体 3mL × 1 瓶	4 $^{\circ}$ C, 避光。
标准品	无水乙醇: 取 11.7 μ L 的无水乙醇, 使用蒸馏水定容至 10mL, 即为 20 μ mol/mL 的乙醇标准品溶液。(选做)	自备

一、产品说明

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。

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 450nm 下测定吸光值变化可测得乙醇含量。

二、自备材料

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

三、样品制备

- 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 $^{\circ}$ C 离心 10 min, 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 $^{\circ}$ C 离心 10 min, 取上清待测。
- 3、血清或血浆: 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

- 1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 450nm, 蒸馏水调零。
- 2、工作液的配制: 临用前根据样本数量, 按照试剂一: 试剂二: 试剂四=500 μ L: 250 μ L: 50 μ L 的比例混匀, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 2min。
- 3、操作表:

试剂名称	体积 (μL)
测定工作液	800
样本	200
混匀, 立刻测定 450 nm 下测定初始吸光值 A1, 37℃避光孵育 10 min 后测定吸光值 A2, 计算 $\Delta A = A2 - A1$ 。	

五、含量的计算

标准曲线: $y = 0.3245 \times x + 0.09998$, $R^2 = 0.9957$; x 为乙醇浓度 (μmol/mL), y 为吸光值差值 ΔA 。

1、按照样本鲜重计算:

乙醇含量 (μmol/g 鲜重) $= [(\Delta A - 0.09998) \div 0.3245 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 3.08 \times (\Delta A - 0.09998) \div W$ 。

2、按照液体体积计算:

乙醇含量 (μmol/mL) $= (\Delta A - 0.09998) \div 0.3245 = 3.08 \times (\Delta A - 0.09998)$ 。

3、按照细胞或细菌数量计算:

乙醇含量 (μmol/ 10^4 cell) $= [(\Delta A - 0.09998) \div 0.3245 \times V1] \div (500 \times V1 \div V2) = 0.006 \times (\Delta A - 0.09998)$ 。

V1: 加入反应体系中样本体积, 0.2 mL; V2: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本质量, g;
500: 细菌或细胞总数, 500 万。

六、注意事项

- 1、标曲中, x 的线性范围为 0.1-5.0, y 的线性范围为 0.074-1.698。
- 2、若 ΔA 大于 1.5, 建议将样本进行稀释, 最终计算结果需乘以稀释倍数, 若 ΔA 小于 0.1, 建议增加样本量。
- 3、提供的标准曲线及公式仅供参考, 若有需要, 可用标准品自制标曲 (计算公式及线性范围根据自制标准曲线需作对应修改), 但需要注意, 受仪器及个人操作影响, 客户自制标准曲线可能与说明书中提供的标准曲线有差别。若无另外的实验要求, 也可直接使用说明书所给标曲进行计算。
- 4、实验全程请注意避光操作。