



甲醇(methanol)含量试剂盒（酶法）

可见分光光度法

货号: R45058-24S

产品简介:

甲醇(methanol)在醇氧化酶作用下生成甲醛,接着与2,4-戊二酮反应显色,该有色物质在412nm下有特定吸收峰;通过计算得到甲醇含量。

试剂盒组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体6mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	粉体mg×2支	-20℃保存	用前轻甩几下使粉体落入底部,每支分别加0.3mL蒸馏水混匀溶解。(尽量现配现用)。
试剂三	试剂A液体μL×1支 试剂B(空瓶)×2瓶	4℃保存	临用前吸取7mL的试剂四至一瓶试剂B中,再吸取15μL的试剂A至试剂B中,混匀溶解做为试剂三备用。
试剂四	液体15mL×1瓶	4℃保存	

所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、水浴锅、可调式移液器、研钵。

甲醇(methanol) 含量检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定,了解本批样品和实验流程,避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①组织样本:称取约0.1g 组织(水分含量高的样本可取约0.5g),加入1mL 提取液,进行冰浴匀浆。12000rpm,4℃ 离心10min,取上清置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为1:5~10的比例进行提取



②细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取500万细菌或细胞加入1mL 提取液，在4℃或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4℃约 12,000rpm 离心10min, 取上清作为待测样品。

【注】:若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

③液体样本：澄清的液体可直接检测，若浑浊可离心后取上清检测。

2、检测步骤:

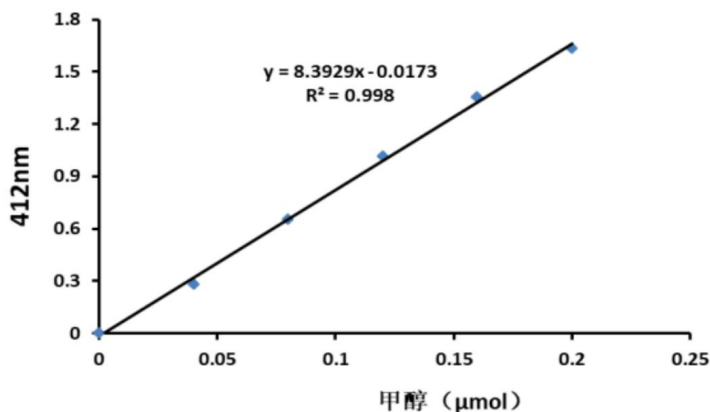
①打开紫外分光光度计，调节波长至412nm, 蒸馏水调零；

②所有试剂解冻至室温(25℃),在EP 管中依次加入：

试剂名称(μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	200	
蒸馏水		200
试剂一	180	180
试剂二	20	20
混匀，于30℃条件下，孵育20min		
试剂三	400	400
混匀，60℃条件下，孵育15min。(若有明显的浑浊现象可于8000rpm室温离心5min),取出全部澄清液体至1mL玻璃比色皿(光径1cm)中，于412nm处读取吸光值A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 8.3929x - 0.0173$, x为标准品摩尔质量(μmol),y是 ΔA 。





2、按照样品质量计算:

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol/g})=[(\Delta A+0.0173)\div 8.3929\div V1\times V]\div W\times D$$

$$=0.5955\times(\Delta A+0.0173)\div W\times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g/g})=[(\Delta A+0.0173)\div 8.3929\div V1\times V]\div W\times D\times Mr$$

$$=19.08\times(\Delta A+0.0173)\div W\times D$$

3、按细胞数量计算:

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol}/10^4\text{cell})=[(\Delta A+0.0173)\div 8.3929\div V1\times V]\div \text{细胞数量}\times D$$

$$=0.5955\times(\Delta A+0.0173)\div \text{细胞数量}\times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g}/10^4\text{cell})=[(\Delta A+0.0173)\div 8.3929\div V1\times V]\div \text{细胞数量}\times D\times Mr$$

$$=19.08\times(\Delta A+0.0173)\div \text{细胞数量}\times D$$

4、按照液体体积计算:

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol/mL})=(\Delta A+0.0173)\div 8.3929\div V1\times D$$

$$=0.5955\times(\Delta A+0.0173)\times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g/mL})=(\Delta A+0.0173)\div 8.3929\div V1\times D\times Mr$$

$$=19.08\times(\Delta A+0.0173)\times D$$

W--- 样本重量, g;

V1--- 样本体积, 0.2mL;

V---加入提取液体积, 1mL;

Mr---甲醇分子量, 32.04;

50---细胞数量, 万;

D---稀释倍数, 未稀释即为1。

附: 标准曲线制作过程:

1.制备标准品母液(0.5mmol/mL): 取0.105mL 分析级甲醇(自备, Mr=32.04)至4.9mL 蒸馏水中, 混匀即得0.5mmol/mL 甲醇标准品母液。(现配现用)。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 400-666-5481 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: 3008007435@qq.com

2.把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0,0.2,0.4,0.6,0.8,1. $\mu\text{mol/mL}$ 。
也可根据实际样本来调整标准品浓度。

3.依据测定管加样表操作, 根据结果即可制作标准曲线。



源叶