

甲醇(methanol)含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-F-FM035 分光法 24 样)

一、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。

二、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	液体 1 支	-20℃保存	用前轻甩几下使液体落入底部, 再加 0.56mL 试剂一混匀溶解, 分装-20 冻存, 禁止反复冻融。
试剂三	试剂 A 液体 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	

三、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。

四、甲醇(methanol)含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品情况, 熟悉实验流程, 避免实验样本和试剂浪费!

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 在 EP 管中依次加入:

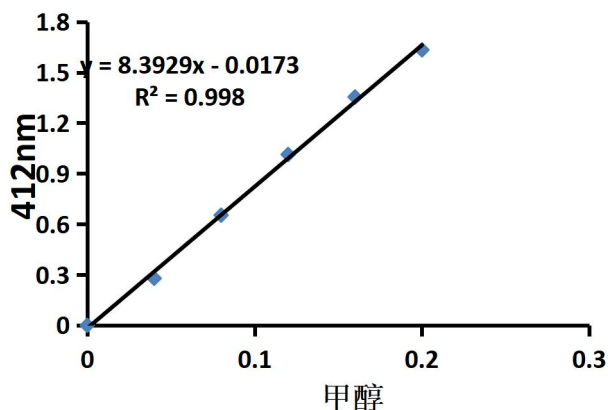
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	200	
蒸馏水		200
试剂一	180	180
试剂二	20	20
混匀, 于 30℃条件下, 孵育 20min		
试剂三	400	400
混匀, 60℃条件下, 孵育 15min。(若有明显的浑浊现		

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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

【注】：若 ΔA 小于 0.01，可增加待检液加入量 V_1 （如由 200 μ L 增至 300 μ L，则试剂一相应减少），或者增加样本取样质量 W ，则改变后的 V_1 和 W 需代入公式计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 8.3929x - 0.0173$ ， x 为标准品浓度（ μ mol）， y 是 ΔA 。



2、按照样品质量计算：

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol/g}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V_1 \times V] \div W \times D = 0.5955 \times (\Delta A + 0.0173) \div W \times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g/g}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V_1 \times V] \div W \times D \times M_r = 19.08 \times (\Delta A + 0.0173) \div W \times D$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲醇含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V_1 \times V] \div \text{细胞数量} \times D \\ &= 0.5955 \times (\Delta A + 0.0173) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{甲醇含量}(\mu\text{g/g}) &= [(\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V_1 \times V] \div \text{细胞数量} \times D \times M_r \\ &= 19.08 \times (\Delta A + 0.0173) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol/g}) = (\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V_1 \times D = 0.5955 \times (\Delta A + 0.0173) \times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g/g}) = (\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V_1 \times D \times M_r = 19.08 \times (\Delta A + 0.0173) \times D$$

W ---样本重量，g；

V ---加入提取液体积，1mL；

V_1 ---样本体积，0.2mL；

M_r ---甲醇分子量，32.04；

500---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， $M_r=32.04$ ）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）。
- 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. μ 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。