

## 甲醇(methanol)含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-FM035 微板法 48 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 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	液体 6mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 1 支	-20°C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°C 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°C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°C保存	

### 三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、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°C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°C或冰浴进行匀浆(或使用各类常见电动匀浆器)。4°C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 打开酶标仪,调节波长至 412nm;在 EP 管中依次加入:

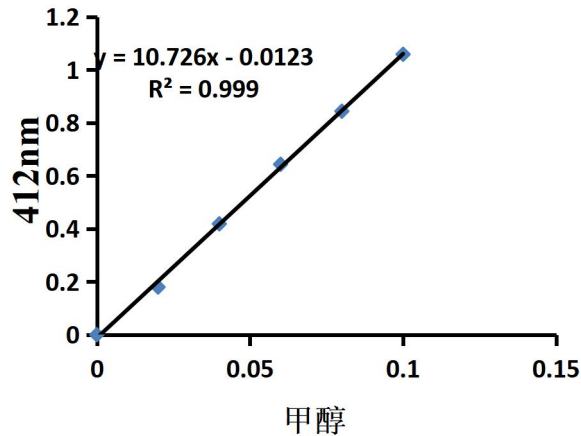
试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)
样本	100	
蒸馏水		100
试剂一	90	90
试剂二	10	10
混匀,于 30°C条件下,孵育 20min		
试剂三	200	200
混匀,60°C条件下,孵育 15min。(若有明显的浑浊现象可于 8000rpm 室温离心 5min),取出 200μL 至 96 孔		

板中，于 412nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A - A_{\text{测定-A 空白}}$ 。

【注】：若  $\Delta A$  小于 0.01，可增加待检液加入量 V1（如由 100 $\mu$ L 增至 150 $\mu$ 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 V1 和 W 需代入公式重新计算。

## 五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 10.726x - 0.0123$ ，x 为标准品浓度（ $\mu$ mol），y 是  $\Delta A$ 。



2、按照样品质量计算：

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol/g}) = [(\Delta A + 0.0123) \div 10.726 \div V1 \times V] \div W \times D = 0.932 \times (\Delta A + 0.0123) \div W \times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g/g}) = [(\Delta A + 0.0123) \div 10.726 \div V1 \times V] \div W \times D \times Mr = 29.86 \times (\Delta A + 0.0123) \div W \times D$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{甲醇含量}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0123) \div 10.726 \div V1 \times V] \div \text{细胞数量} \times D \\ &= 0.932 \times (\Delta A + 0.0123) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{甲醇含量}(\mu\text{g/g}) &= [(\Delta A + 0.0123) \div 10.726 \div V1 \times V] \div \text{细胞数量} \times D \times Mr \\ &= 29.86 \times (\Delta A + 0.0123) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算：

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol/g}) = (\Delta A + 0.0123) \div 10.726 \div V1 \times D = 0.932 \times (\Delta A + 0.0123) \times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g/g}) = (\Delta A + 0.0123) \div 10.726 \div V1 \times D \times Mr = 29.86 \times (\Delta A + 0.0123) \times D$$

W---样本重量，g；

V---加入提取液体积，1mL；

V1---样本体积，0.1mL；

Mr---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，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）。
- 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.  $\mu$ 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。