

Methanol Content Kit

甲醇含量检测试剂盒说明书

货号:BN72302 | 方法:微板法 | 规格: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℃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	

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 打开酶标仪,调节波长至 412nm;所有试剂解冻至室温(25℃),

② 在 EP 管中依次加入:

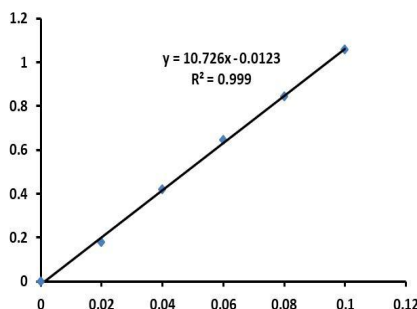
试剂名称(μL)	测定管	空白管(仅做一次)
样本	100	
蒸馏水		100
试剂一	90	90
试剂二	10	10
混匀,于 30℃条件下,孵育 20min		
试剂三	200	200
混匀,60℃条件下,孵育 15min。(若有明显的浑浊现		

象可于 8000rpm 室温离心 5min), 取出 200μL 至 96 孔板中, 于 412nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。

注意: 本操作流程适用于绝大多数常规样本检测, 实验条件可根据实际样本状态适度微调;
针对特殊类型样本, 我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算:

1、标准曲线方程: $y = 10.726x - 0.0123$, x 为标准品摩尔质量 (μmol), y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明: 标准曲线由标准品测定获得, 具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

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:

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

$$\begin{aligned} \text{甲醇含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0123) \div 10.726 \div V1 \times V] \div \text{细胞数量} \times D \times Mr \\ &= 29.86 \times (\Delta A + 0.0123) \div \text{细胞数量} \times D \end{aligned}$$

4、按照液体体积计算:

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

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

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。