

甲醇(methanol)含量试剂盒（酶法）（可见分光光度法）

产品货号：BA2682

产品规格：24样

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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体30mL×1瓶	2-8℃	
试剂一	液体6mL×1瓶	2-8℃	
试剂二	粉剂mg×2支	-20℃	用前轻甩几下使粉剂落入底部，每支分别加0.3mL的蒸馏水混匀溶解。（尽量现配现用）
试剂三	试剂A液体μL×1支 试剂B（空瓶）×2瓶	2-8℃	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	2-8℃	

所需的仪器和用品：

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

甲酸脱氢酶(FDH)活性测定：

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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

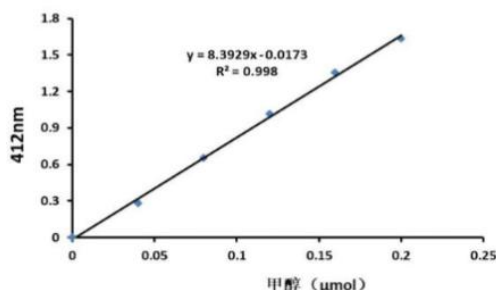
试剂二	20	20
混匀，于30℃条件下，孵育20min		
试剂三	400	400
混匀，60℃条件下，孵育15min。(若有明显的浑浊现象可于8000rpm室温离心5min)，取出全部澄清液体至1mL玻璃比色皿（光径1cm）中，于412nm处读取吸光值A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

【注】：1.若 ΔA 小于0.01，可增加待检液加入量V1(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V1和W需代入公式重新计算。

2.若样本是黄色的液体如发酵酒等，可以增设一个自身对照(对照管即不加试剂二，用试剂一替换)，则 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。

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(μ mol)，y是 ΔA 。



2. 按照样品质量计算：

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{mol/g}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V1 \times V] \div W \times D = 0.5955 \times (\Delta A + 0.0173) \div W \times D$$

$$\text{甲醇含量}(\mu\text{g/g}) = [(\Delta A + 0.0173) \div 8.3929 \div V1 \times V] \div W \times D \times Mr = 19.08 \times (\Delta A + 0.0173) \div W \times D$$

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；V---加入提取液体积，1mL；V1---样本体积，0.2mL；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：

- 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)。
- 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品：0，0.2，0.4，0.6，0.8，1.0 μ mol/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 依据测定管加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com