

山梨醇含量试剂盒

微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

使 用 说 明 书

货号：JL-T1076

有效期：6个月

规格：48T(20S)/96T(44S)

保存温度：2-8℃

实验原理：

山梨醇广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，不仅是糖运输形式之一，而且与生物抗逆性和食物风味密切相关。因此，在糖代谢、抗逆性和食品研究中经常需要检测山梨醇含量变化。山梨醇在碱性溶液中与铜离子形成蓝色络合物，在 655nm 波长有特征吸收峰。

检测范围：0.01-5mg/mL 灵敏度：0.01mg/mL

注意事项：

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

产品组成:

试剂名称	规格 (48T/20S)	规格 (96T/44S)	保存条件
试剂一	1.75mL×1 瓶	3.5mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	1.75mL×1 瓶	3.5mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	粉剂×1 瓶	粉剂×2 瓶	2-8°C保存

所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、水浴锅。

样本处理及要求:

1. **试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.01-5mg/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为蒸馏水。
2. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
3. **山梨醇的提取**：按照组织质量 (g) : 蒸馏水体积(mL)为 1:5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 蒸馏水)，研磨成匀浆，95°C水浴 10 分钟 (盖紧，以防止水分散失)，冷却后，12000 g，4°C离心 10min，取上清液待测。

检测前准备工作:

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液的配制:** 使用前取一支加 1.5mL 蒸馏水，配置成 10mg/mL 标准品溶液。配置好后 2-8°C 可保存 3 天。按下表用对应量的蒸馏水稀释成以下浓度的标准品工作液：0mg/mL、1mg/mL、1.5mg/mL、2mg/mL、2.5mg/mL、3mg/mL、4mg/mL、5mg/mL。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度 (mg/mL)	0	1	1.5	2	2.5	3	4	5
10mg/mL 标准品 (μL)	0	50	75	100	125	150	200	250
蒸馏水 (μL)	500	450	425	400	375	350	300	250

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用蒸馏水稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 655nm。
2. 样本测定 (在 EP 管中依次加入) :

试剂名称 (μL)	标准管	测定管	对照管
蒸馏水	80	80	115
试剂一	35	35	
试剂二	35	35	35
不同浓度标准品	150		
样本		150	150

震荡显色 15min, 12000 g、室温 (25°C) 离心 5min, 取 200μL 上清液至 96 孔板中, 于 655nm 处读取各孔 OD 值。

注: 蒸馏水必须第一步加入, 加液步骤严格按照说明书进行。

实验结果结算：

1. 标准品拟合曲线： $y=ax+b$ 。

2. 按样本质量计算公式：

$$\text{山梨醇含量(mg/g 质量)}=(\Delta A-b)\div a\times V_{\text{样}}\div(W\times V_{\text{样}}\div V_{\text{提}})\times N=(\Delta A-b)\div a\div W\times N$$

3. 按细菌或细胞密度计算公式：

$$\text{山梨醇含量(mg/10}^4\text{ cell)}=(\Delta A-b)\div a\times V_{\text{样}}\div(V_{\text{样}}\times 500)\times N=(\Delta A-b)\div a\times N\div 500$$

4. 按液体体积计算公式：

$$\text{山梨醇含量(mg/mL)}=(\Delta A-b)\div a\times V_{\text{样}}\div V_{\text{样}}\times N=(\Delta A-b)\div a\times N\div 500$$

注：

y：标准孔 OD 值-空白孔 OD 值 ΔA ：测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

a：标准曲线斜率

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.15mL

x：标准品的浓度

$V_{\text{提}}$ ：加入提取液体积，1mL

b：标准曲线截距

N：样本稀释倍数

W：样本鲜重，g

500：细菌或细胞总数，万

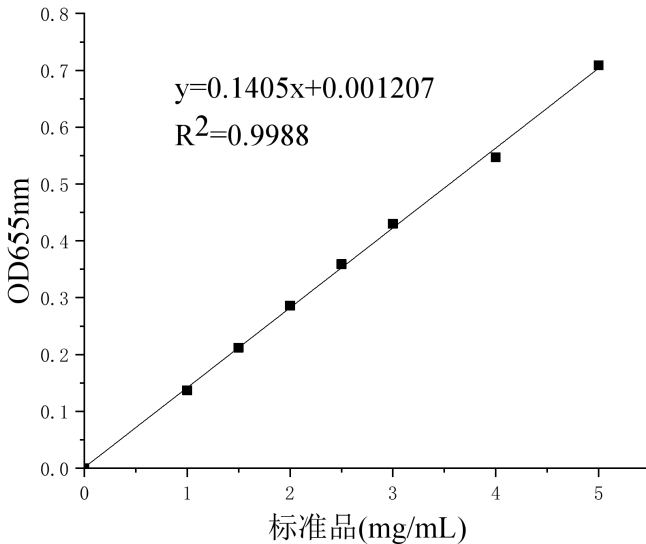
参考样本数据:

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
苹果 (10%匀浆)	不稀释	21.814mg/g
梨子 (10%匀浆)	不稀释	31.628mg/g

参考曲线:

$y=0.1405x+0.001207$, $R^2=0.9988$, x 是标准品浓度(mg/mL), y 是 ΔA 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

咨询电话：400-0066-400

传 真：021-55660885

电子邮箱：shjls@163.com

网 址：www.jonln.com