

山梨醇含量检测试剂盒说明书

Sorbitol Assay Kit

微量法

货号：AK143

规格：100T/96S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK143-A	5mL×1 瓶	4℃保存
AK143-B	5mL×1 瓶	4℃保存
AK143-标准品	粉剂×1 支	4℃保存；临用前将标准品用 1mL 蒸馏水溶解，配制成为浓度为 10mg/mL 的标准液备用，4℃可保存 2 周。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：山梨醇 (Sorbitol) 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。

原理：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。

自备用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、移液器、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

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℃水浴 10 分钟(盖紧, 以防止水分散失), 冷却后, 8000g, 常温离心 10min, 取上清液待测。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至655nm, 蒸馏水调零。
2. 标准溶液的制备：临用前将 10mg/mL 标准液用蒸馏水稀释至 4、2、1、0.5、0.25、0.125、0 (空白) mg/mL, 标准溶液待测。
3. 在 EP 管中依次加入下列试剂

试剂名称	标准管 (ul)	测定管 (ul)
AK143-A	35	35
AK143-B	35	35
样本		230
标准液	230	

涡旋混匀, 室温静置 15min, 8000g, 常温离心 10min, 取 200ul 上清液测 655nm 处吸光值 A, 分别记为 A 标准、A 测定、A 空白。ΔA 测定=A 测定-A 空白, ΔA 标准=A 标准-A 空白。

注：标准曲线和空白管只需测 1-2 次。

山梨醇含量计算：

1. 根据标准品的浓度 (y, mg/mL) 和吸光度 A (x, AA 标准), 建立标准上曲线。根据标准曲线, 将 A 测定 (x, ΔA 测定) 带入公式计算样本浓度 (y, mg/mL)。
2. 按照样本质量计算

山梨醇含量 (mg/g 鲜重) == $y \times V_1 \div (W \times V_1 \div V_2) = 2y \div W$

3. 按照样本蛋白浓度计算

山梨醇含量 (mg/mg prot) = $y \times V_1 \div (V_1 \times C_{pr}) = y \div C_{pr}$

注: V1: 加入样本体积, 0.23mL; V2: 加入提取液体积, 1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g

注意:

如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。计算公式中注意乘以稀释倍数。