

## 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。 $\Delta A$  测定=A 测定-A 空白,  $\Delta A$  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,  $\Delta A$  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：V<sub>1</sub>：加入样本体积，0.23mL；V<sub>2</sub>：加入提取液体积，1 mL；C<sub>pr</sub>：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。