

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 | 液体 3.5mL×1 瓶 | 4℃保存； |
| AK143-B | 液体 3.5mL×1 瓶 | 4℃保存； |

※ 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、微量石英比色皿/96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

山梨醇的提取：

1. 组织样品的制备：

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 0.2g 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，25℃离心 10min，取上清液待测。

2. 血清 (浆)：直接检测。

测定步骤：

1. 分光光度计或酶标仪预热30min 以上，调节波长至655nm，蒸馏水调零。

2. 微量石英比色皿或 96 孔板中依次加入下列试剂

| 试剂名称 | 空白管 (ul) | 测定管 (ul) |
|---------|----------|----------|
| AK143-A | 35 | 35 |
| AK143-B | 35 | 35 |
| 样本 | | 230 |
| 蒸馏水 | 230 | |

混匀后室温静置15min，8000g，25℃离心10min，取200μL 上清液至微量石英比色皿或 96 孔板中，测655nm 下吸光值A，计算 $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{空白管}}$ 。空白管只要做一管。

山梨醇含量计算：

a. 用微量石英比色皿测定的计算公式如下

1. 标准条件下测定回归方程为 $y = 0.352x - 0.002$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为吸光值。

2. 按照样本质量计算

$$\text{山梨醇含量 (mg/g 鲜重)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.352 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 2.84 \times (\Delta A + 0.002) \div W$$

3. 按照样本蛋白浓度计算

$$\text{山梨醇含量 (mg/mg prot)} = [(\Delta A + 0.002) \div 0.352 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 2.84 \times (\Delta A + 0.002) \div Cpr$$

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；

b. 用 96 孔板测定的计算公式如下

1. 标准条件下测定回归方程为 $y = 0.176x - 0.002$; x 为标准品浓度(mg/mL), y 为吸光值。
2. 按照样品质量计算
山梨醇含量 (mg/g 鲜重) = $[(\Delta A + 0.002) \div 0.176 \times V1] \div (W \times V1 \div V2) = 5.68 \times (\Delta A + 0.002) \div W$
3. 按照样本蛋白浓度计算
山梨醇含量 (mg/mg prot) = $[(\Delta A + 0.002) \div 0.176 \times V1] \div (V1 \times Cpr) = 5.68 \times (\Delta A + 0.002) \div Cpr$
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:

最低检测限为 $1\mu\text{g/g}$ 鲜重或 $0.01\mu\text{g/mg prot}$