

## 山梨醇含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHE3-M48	山梨醇含量检测试剂盒	48T	微量法
AYHE3-M96		96T	

### 一、测定原理：

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。

### 二、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂一	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 3mL×1 瓶	液体 6mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品	粉剂 ×1 支	粉剂 ×2 支	2-8℃保存
标准品：临用前将标准品用 1mL 蒸馏水溶解，配制成浓度为 10 mg/mL 的标准液待用，2-8℃可保存 2 周。			

### 三、操作步骤：

#### 样本前处理

取一定量 组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量 (g)：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

#### 测定步骤

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 655nm，蒸馏水调零。
2. 测定前将试剂恢复至常温；
3. 将10mg/mL标准品用蒸馏水依次稀释至0、0.125、0.25、0.5、1、1.5、2mg/mL；
4. 操作表：

	空白管	标准管	测定管
标准品 (μL)	-	230	-
样品 (μL)	-	-	230

双蒸水 (μL)	230	-	-
试剂一 (μL)	35	35	35
试剂二	35	35	35
混匀后室温静置 15min, 8000g, 常温离心 10min, 取 200μL 上清液, 于 655nm 进行比色测定, 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。标准曲线和空白管只需测 1-2 次。			

#### 四、山梨醇含量计算:

1、根据标准管的浓度 (y, mg/mL) 和吸光度 A (x, ΔA 标准), 建立标准曲线。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

$$\text{山梨醇含量 (mg/g 质量)} = y \times V1 \div (W \times V1 \div V2)$$

3、按照样本蛋白浓度计算

$$\text{山梨醇含量 (mg/mg prot)} = y \times V1 \div (V1 \times Cpr)$$

V1: 加入样本体积, 0.23mL; V2: 加入蒸馏水体积, 0.23mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL; W: 样本质量, g。

#### 五、注意事项:

1、实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测;

2、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。