

Sorbitol Content Kit

山梨醇含量测定说明书

货号: BN72442 | 方法: 微板法 | 规格: 96 样

一、产品简介:

山梨醇广泛存在于动物、植物、微生物细胞中,作为一种糖的运输形式,与生物抗逆性有关,可作为食品添加剂,增加食物风味。在糖代谢、抗逆性和食品研究中经常需要检测山梨醇含量。

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,进而得出样本中山梨醇含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	粉体 mg×2 瓶	4℃保存	每瓶临用前甩几下使粉体落入底部,再分别加 2mL 蒸馏水充分溶解备用。
试剂二	液体 7mL×1 瓶	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

四、山梨醇含量检测步骤:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 组织样本:称取约 0.1g 组织,加入 1mL 蒸馏水,研磨匀浆后,95℃水浴浸提 10 分钟(盖紧用封口膜封口,以防止水分散失),冷却后,4℃×12000rpm 离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 1:5~10 的比例进行提取。

- ② 细菌/细胞样本:先收集细菌或细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 蒸馏水,超声波破碎细菌或细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);95℃水浴浸提 10 分钟(盖紧用封口膜封口,以防止水分散失),冷却后,4℃×12000rpm 离心 10min,取上清,置冰上待测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为 500~1000:1 比例进行提取。

- ③ 液体样本:直接检测;若浑浊,离心后取上清检测。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min 以上,调节波长至 655nm,所有试剂解冻至室温(25℃)。

- ② 在 EP 管中依次加入:

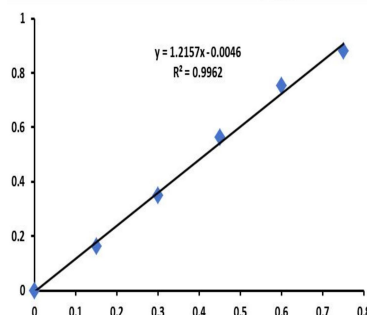
试剂名称(μL)	测定管	对照管
试剂一	35	
试剂二	35	35

样本	150	150
蒸馏水	80	115
震荡显色 15min, 12000rpm、室温 (25℃) 离心 5min, 取 200μL 上清液至 96 孔板中, 于 655nm 处读取吸光值 A, $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ (每个测定管需设一个对照管)。		

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 1.2157x - 0.0046$, x 是标准品（山梨醇）质量（mg），y 是 ΔA 。



标准曲线示意图

说明：标准曲线由标准品测定获得，具体制作方法详见随货说明书或咨询技术支持。

2、按样本鲜重计算：

$$\text{山梨醇含量(mg/g)} = [(\Delta A + 0.0046) \div 1.2157] \div (W \times V1 \div V) \times D = 5.48 \times (\Delta A + 0.0046) \div W \times D$$

3、按细菌或细胞密度计算：

$$\begin{aligned} \text{山梨醇含量(mg/10}^4 \text{ cell)} &= [(\Delta A + 0.0046) \div 1.2157] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 5.48 \times (\Delta A + 0.0046) \div 500 \times D \end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

$$\text{山梨醇含量(mg/mL)} = [(\Delta A + 0.0046) \div 1.2157] \div V1 \times D = 5.48 \times (\Delta A + 0.0046) \times D$$

V---加入提取液体积，1mL； V1---加入样本体积，0.15mL；

W---样本鲜重，g； 500---细菌或细胞总数，万；

D---稀释倍数，若未稀释则值为 1。