

CheKine™ 山梨醇含量检测试剂盒（微量法）

Cat #: KTB3061

Size: 48 T/48 S 96 T/96 S

	山梨醇含量检测试剂盒（微量法）		
REF	货号：KTB3061	LOT	批号：见产品标签
	适用样本：动植物组织、血清（浆）或其他液体		
	保质期：4℃，避光保存 6 个月		

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。CheKine™ 山梨醇含量检测试剂盒（微量法）可检测动植物组织，血清或血浆等生物样本。在该试剂盒中，山梨醇在碱性溶液中与铜离子形成蓝色络合物，在 655 nm 波长有特征吸收峰。

包装清单

试剂盒组分	规格		储存条件
	48 T	96 T	
Reagent I	2.5 mL	5 mL	4℃
Reagent II	2.5 mL	5 mL	4℃，避光保存
Standard	Powder×1 vial	Powder×1 vial	4℃，避光保存

注意：正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。

自备耗材

- 酶标仪或可见分光光度计（能测 655 nm 处的吸光度）
- 96 孔板或微量玻璃比色皿、可调节式移液枪及枪头、1.5 mL 离心管
- 水浴锅、离心机
- 去离子水
- 匀浆器（如果是组织样本）

试剂准备

Reagent I: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃保存。

Reagent II: 即用型；使用前，平衡到室温。4℃避光保存。

Standard: 临用前配制；加入 1 mL 去离子水配制成 10 mg/mL 的山梨醇标准品备用，4℃避光可保存 2 周。

标准品制备: 使用 10 mg/mL 的山梨醇标准品，按照下表所示，进一步稀释成标准品：

序号	Standard 体积	去离子水体积 (μL)	浓度 (mg/mL)
Std.1	400 μL 10 mg/mL Standard	600	4
Std.2	500 μL of Std.1 (4 mg/mL)	500	2
Std.3	500 μL of Std.2 (2 mg/mL)	500	1
Std.4	500 μL of Std.3 (1 mg/mL)	500	0.5
Std.5	500 μL of Std.4 (0.5 mg/mL)	500	0.25
Std.6	500 μL of Std.5 (0.25 mg/mL)	500	0.125
Blank	0	500	0

注意：每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

样本制备

注意：建议使用新鲜样本。如果不立即使用，可将样品在-80℃下保存一个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

1. 组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水，研磨成匀浆，95℃水浴 10 min（盖紧，以防止水分散失），冷却后，8,000g，常温离心 10 min，取上清液待测。
2. 血清（浆）等液体样本：直接检测。

注意：如需测定蛋白浓度，推荐使用 Abbkine 货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）进行样本蛋白质浓度测定。

实验步骤

1. 酶标仪或可见光分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 655 nm，可见光分光光度计用去离子水调零。
2. 操作表（下述操作在 1.5 mL 离心管中操作）：

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
样本上清	0	0	230
Standards	0	230	0
Reagent I	35	35	35
Reagent II	35	35	35
去离子水	230	0	0

3. 混匀后，室温静置 15 min，8,000 g，常温离心 10 min，取 200 μL 上清液至微量玻璃比色皿或 96 孔板中，测定 655 nm 处吸光度，空白孔记为 A_{空白}，标准孔记为 A_{标准}，测定孔记为 A_{测定}。计算 $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{空白}$ ， $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

注意：标准曲线和空白孔只用测 1-2 次。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 $\Delta A_{测定}$ 小于 0.01 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{测定}$ 大于 4 mg/mL 的 $\Delta A_{标准}$ ，样本可用去离子水进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。

结果计算

注意：我们为您提供的计算公式，包括推导过程计算公式和简洁计算公式。两者完全相等。建议以加粗的简洁计算公式为最终计算公式。

1. 标准曲线的绘制
以标准溶液浓度为 x 轴， $\Delta A_{标准}$ 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta A_{测定}$ 带入方程得到 x(mg/mL)。
2. 山梨醇含量的计算：



(1) 按样本蛋白浓度计算：

山梨醇(mg/mg prot)= $y \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times \text{Cpr}) = y \div \text{Cpr}$

(2) 按样本鲜重计算：

山梨醇(mg/g 鲜重)= $y \times V_{\text{样本}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{水}}) = y \div W$

(3) 按样本体积计算：

山梨醇(mg/mL)= $x \times n$

$V_{\text{样本}}$ ：加入样本体积，0.23 mL； $V_{\text{水}}$ ：加入去离子水体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；n：血清等液体样本稀释倍数

注意事项

实验步骤中操作过程不能产生沉淀，可以边加样边混匀或者改变加样顺序。

结果展示

以下数据仅供参考，实验者需根据自己的实验对样品进行检测。

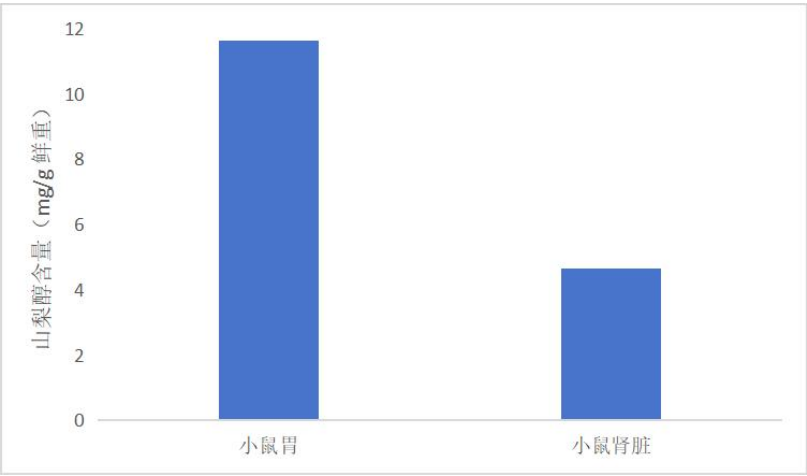


Figure 1. 本试剂盒测定小鼠肝脏和小鼠肾脏中山梨醇的含量

相关产品

Catalog No.	Product Name
KTB1330	CheKine™ 血糖含量检测试剂盒（微量法）
KTB1340	CheKine™ 糖原含量检测试剂盒（微量法）
KTB3060	CheKine™ 山梨醇脱氢酶活性检测试剂盒（微量法）

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。