CheKine™ 山梨醇含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3061　　规格: 48 T/48 S　96 T/96 S　　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

01 背景与原理

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。

本试剂盒检测原理是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。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	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

***请在实验前检查各组分的量。**

***各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。**

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 655 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	去离子水	稀释标准品、提取样本、检测用
其他	匀浆器（组织样本）、水浴锅、离心机、1.5 mL 离心管、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- **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。**
- 对于组织样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，**请在实验全程做好生物安全防护**，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
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
10 mg/mL Standard	临用前配制；加入 1 mL 去离子水配制成 10 mg/mL 的山梨醇标准品待用	未用完的试剂 4℃避光保存 2 周

05-1-2 标准品配制

使用 10 mg/mL 的山梨醇标准品，按照下表所示，进一步稀释标准品。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。

序号	标准品（μL）	去离子水（μL）	浓度（mg/mL）
1	400 μL of 10 mg/mL	600	4
2	500 μL of 4 mg/mL	500	2
3	500 μL of 2 mg/mL	500	1
4	500 μL of 1 mg/mL	500	0.5
5	500 μL of 0.5 mg/mL	500	0.25
6	500 μL of 0.25 mg/mL	500	0.125
空白	0	500	0

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。样本尽量新鲜提取，如果不能当天提取，则把分装的组织块和血清（浆）保存在-80℃，一个月内使用。当准备好进行该项实验时，将样本从-80℃拿出后解冻。但是请注意，这可能会影响样本的稳定性，实验结果可能会低于预期。

- **动植物组织：**称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL 去离子水，研磨匀浆，95℃水浴 10 min（盖紧，以防止水分散失，推荐使用带盖螺帽管），8000 g，室温（25℃）离心 10 min，取上清液待测。
- **血清（浆）等液体样本：**直接检测。

05-3 实验步骤

1. **酶标仪准备**：预热 30 min 以上，调节波长到 655 nm。
2. **检测体系配制**：标准曲线和空白管只需做 1 次。在 1.5 mL 离心管中按照如下方式操作。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：

试剂	空白管（μL）	标准管（μL）	测定管（μL）
样本上清	0	0	230
Standard	0	230	0
去离子水	230	0	0
Reagent Ⅰ	35	35	35
Reagent Ⅱ	35	35	35
混匀后，室温（25℃）静置 15 min，8000 g，室温（25℃）离心 10 min			

3. **吸光度检测：**取 200 μL 上清液至 96 孔板中，测定 655 nm 处的吸光度。空白管记为 $A_{空白}$，标准管记为 $A_{标准}$，测定管记为 $A_{测定}$。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧**二维码**或访问官网[https://www.abbkine.cn]>进入“**技术中心**”>查找“**在线计算器**”**工具**。

06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算$\Delta A_{测定}=A_{测定}-A_{空白}$，$\Delta A_{标准}=A_{标准}-A_{空白}$。

2. 标准曲线绘制

以标准品浓度为 y 轴，$\Delta A_{标准}$为 x 轴，绘制标准曲线。将$\Delta A_{测定}$代入方程得到 y 值（mg/mL）。

3. 山梨醇含量的计算

- 按蛋白浓度计算：

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

- 按样本鲜重计算：

山梨醇(mg/g)=$y\times V_{样本}\div(W\times V_{样本}\div V_{提取})\times n$**=$y\div W\times n$**

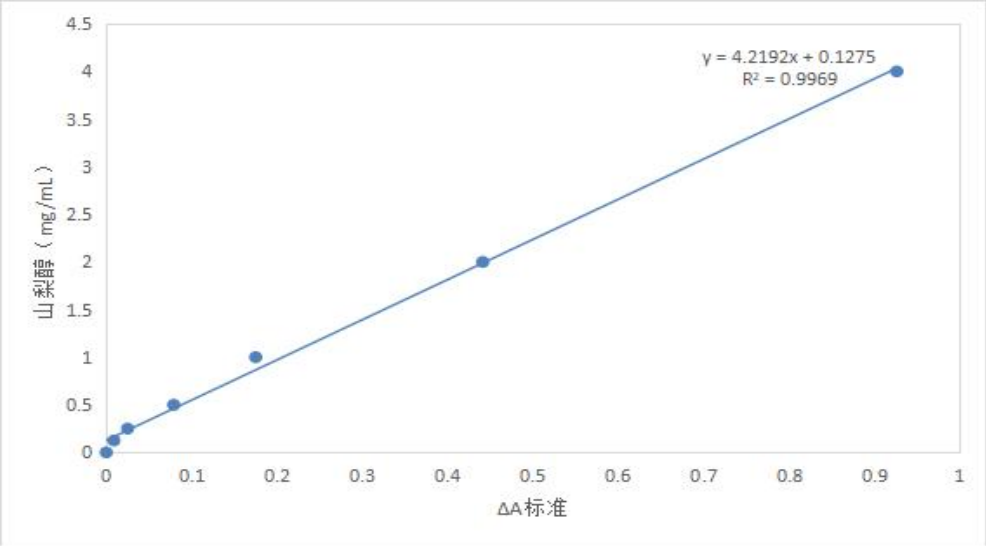
- 按液体体积计算：

山梨醇(mg/mL)=y×$V_{样本}$÷$V_{样本}$×n**=y×n**

$V_{样本}$：加入的样本体积，0.23 mL；$V_{提取}$：提取时加入去离子水的体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；n：样本稀释倍数。

07 结果展示

典型标准曲线：y=4.2192x+0.1275，R^2=0.9969



示例-1：取 0.12 g 玉米叶，按上述步骤操作，用 96 孔板测得$\Delta A_{测定}$=$A_{测定}$-$A_{空白}$=0.863-0.042=0.821，代入标准曲线，计算 y=3.59。按样本鲜重计算含量得：山梨醇(mg/g)**=y÷W×n**=29.92 mg/g。

08 FAQ

- **检测得到的样本$\Delta A_{测定}$过高或者过低怎么办?**

如果样本$\Delta A_{测定}$>4 mg/mL 的$\Delta A_{标准}$，样本需用去离子水适当进行稀释后，再进行实验，结果乘以稀释倍数，或减少提取用样本量。如果样本的$\Delta A_{测定}$<0.01，可适当提高样本量。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
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）

CheKine™ 山梨醇含量检测流程示意图

（Abbkine 货号：KTB3061）

样本处理



根据实际需求对样本
稀释或不稀释，若溶液有
浑浊则离心后取上清





1 mL 去离子水
冰浴匀浆
95℃水浴10 min

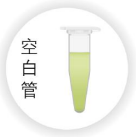


8000 g，室温（25℃）离心10 min，取上清

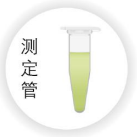


体系配置

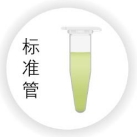
标准品配制



去离子水 230 μL
Reagent Ⅰ 35 μL
Reagent Ⅱ 35 μL



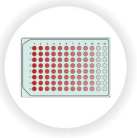
样本上清 230 μL
Reagent Ⅰ 35 μL
Reagent Ⅱ 35 μL



Standard 230 μL
Reagent Ⅰ 35 μL
Reagent Ⅱ 35 μL

混匀，室温（25℃）静置15 min
8000 g，室温（25℃）离心10 min
取200 μL上清液至96孔板中

数据检测



记录655 nm处吸光值
结果计算

V1.0