

苹果酸（MACA）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
AYHD2-C24	苹果酸（MACA）含量检测试剂盒	24T	常量法
AYHD2-C48		48T	

一、测定意义：

苹果酸常用于食品添加剂，食品和饮料生产中，苹果酸含量测定可以帮助优化发酵、储存等工艺，确保产品品质稳定。测定苹果酸含量有助于评估食品和饮料的质量，尤其是在果汁、葡萄酒等产品中，苹果酸是影响风味和口感的关键成分。

二、测定原理：

苹果酸在苹果酸脱氢酶（MDH）和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD⁺）的反应中，发生氧化还原反应，生成草酰乙酸和 NADH。NADH 总量可以看做 L-苹果酸总量，在 340nm 波长条件下测定 NADH 总量。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(24T)	试剂装量(48T)	保存条件
提取液	液体 30mL×1 瓶	液体 60mL×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	粉剂 ×1 瓶	粉剂 ×2 瓶	-20℃保存
试剂二的配制： 用时每瓶粉剂加入蒸馏水 5mL，混匀充分溶解，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。			
试剂三	液体 ×1 支	液体 ×2 支	-20℃保存
试剂三的配制： 用时每支试剂加入蒸馏水 1.125mL，混匀充分混匀，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。			
试剂四	液体 ×1 支	液体 ×2 支	-20℃保存
试剂四的配制： 用时每支试剂加入蒸馏水 1.125mL，混匀充分混匀，-20℃保存 1 周，避免反复冻融。			

四、操作步骤：

样本前处理

1、组织：按照组织质量（g）:提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）进行冰浴匀浆。5000 rpm，

4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。

2、细菌、细胞：按照细胞数量 10⁴ 个：提取液体积（mL）500~1000:1 的比例（建议 500 万细胞加入 1 mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞（功率 300w，超声 3s，间隔 7s，总时间 3 min），5000 rpm，4℃离心 10min，取上清置冰上待测。

测定步骤

- 分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 测定前将试剂恢复至室温；
- 操作表（在石英比色皿中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	100	-
双蒸水（μL）	-	100
试剂一（μL）	600	600
试剂二（μL）	200	200
试剂三（μL）	50	50
混匀，3min 后读取吸光度（A ₁ ），再加以下试剂继续反应		
试剂四（μL）	50	50
混合均匀，记录 340nm 处 10min 时的吸光值 A ₂ ，计算 ΔA _{测定} =A _{1测定} -A _{2测定} 。ΔA _{空白} =A _{1空白} -A _{2空白} ；ΔA=ΔA _{测定} -ΔA _{空白} 。 （空白管只做 1-2 管）		

五、苹果酸（MACA）含量测定：

1、按样本蛋白浓度计算

计算公式：苹果酸（nmol/min/mg prot）=[ΔA×V_{反应}÷（ε×d）×10⁹]÷
（V_样×Cpr）÷T=ΔA×160.77÷Cpr

2、按样本鲜重计算

计算公式：苹果酸（nmol/min/g）=[ΔA×V_{反应}÷（ε×d）×10⁹]÷（V_样
÷V_{样总}×W）÷T=ΔA×160.77÷W

3、按照细菌或细胞数量计算

计算公式：苹果酸 (nmol/min/10⁴ cell) = $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div$
 $(V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = \Delta A \times 0.32$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，1×10⁻³ L； ϵ ：NADH，6.22×10³ L/mol/cm；
 d ：比色皿光径，1cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.1mL； $V_{\text{样总}}$ ：加入提
取液体积，1mL； T ：反应时间，10min； C_{pr} ：样本蛋白质浓度，mg/mL；
10⁹：单位换算系数，1mol=10⁹nmol； W ：样本质量，g；500：细菌
或细胞总数，500 万。

六、 注意事项：

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。

【厂家信息】

生产企业：南京陌凡生物科技有限公司

地址：南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

【售后微信】



【说明书核准及修改日期】

核准日期：2025 年 4 月 7 日

修改日期：2025 年 4 月 7 日