

## 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-M48	苹果酸（MACA）含量检测试剂盒	48T	微量法
AYHD2-M96		96T	

### 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<sup>+</sup>）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(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	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 2.5mL，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 0.45mL，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 0.45mL，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 10<sup>4</sup> 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

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；

2、测定前将试剂恢复至室温；

3、操作表（在 96 孔 UV 板中加入以下试剂）：

试剂名称	测定管	空白管
样品（μL）	20	-
双蒸水（μL）	-	20
试剂一（μL）	120	120
试剂二（μL）	40	40
试剂三（μL）	10	10
混匀，3min 后读取吸光度（A1），再加以下试剂继续反应		
试剂四（μL）	10	10
混合均匀，记录 340nm 处 10min 时的吸光值 A2，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A1_{\text{测定}} - A2_{\text{测定}}$ ， $\Delta A_{\text{空白}} = A1_{\text{空白}} - A2_{\text{空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。 （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）=  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 267.9 \div C_{\text{pr}}$

2、按样本鲜重计算

**计算公式：**苹果酸（nmol/min/g）=  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 267.9 \div W$

3、按照细菌或细胞数量计算

**计算公式：**苹果酸 (nmol/min/10<sup>4</sup> cell) =  $[\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div$   
 $(V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = \Delta A \times 0.54$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，2×10<sup>-4</sup> L； $\epsilon$ ：NADH，6.22×10<sup>3</sup> L/mol/cm；  
 $d$ ：96 孔 UV 板光径，0.6cm； $V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.02mL； $V_{\text{样总}}$ ：  
加入提取液体积，1mL； $T$ ：反应时间，10min； $C_{\text{pr}}$ ：样本蛋白质浓  
度，mg/mL；10<sup>9</sup>：单位换算系数，1mol=10<sup>9</sup>nmol； $W$ ：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