

## 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
<b>试剂二的配制：</b> 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
<b>试剂三的配制：</b> 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
<b>试剂四的配制：</b> 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) =  $[\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\varepsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 267.9 \div C_{\text{pr}}$

2、按样本鲜重计算

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

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) = [ΔA × V<sub>反总</sub> ÷ (ε × d) × 10<sup>9</sup>] ÷

$$(V_{\#} \div V_{\text{样总}} \times 500) \div T = \Delta A \times 0.54$$

V<sub>反总</sub>: 反应体系总体积, 2×10<sup>-4</sup> L; ε: NADH, 6.22×10<sup>3</sup>L/mol/cm;

d: 96 孔 UV 板光径, 0.6cm; V<sub>样</sub>: 加入样本体积, 0.02mL; V<sub>样总</sub>:

加入提取液体积, 1mL; T: 反应时间, 10min; Cpr: 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