

苹果酸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
PYHC9-C24	苹果酸含量检测试剂盒	24T	常量法
PYHC9-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 16mL×1 瓶	液体 32mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	粉剂 ×1 瓶	粉体 ×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

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，

研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液）冰浴匀浆，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

- 1、分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 340nm，蒸馏水调零；
- 2、测定前将试剂恢复至常温；
- 3、操作表（在玻璃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（记为 A _{1 测定} 、A _{1 空白} ），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 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{1 \text{ 测定}} - A_{2 \text{ 测定}}$ 。 $\Delta A_{\text{空白}} = A_{1 \text{ 空白}} - A_{2 \text{ 空白}}$ ； $\Delta A = \Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}$ 。 （空白管只做 1-2 管）		

五、苹果酸含量计算：

- 1、按样本质量计算：

$$\text{苹果酸 (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 160.77 \div W$$

- 2、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{苹果酸 (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反总}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 160.77 \div C_{\text{pr}}$$

V_{反总}: 反应体系总体积, 1×10⁻³ L; ε: NADH, 6.22×10³L/mol/cm²

d: 比色皿光径, 1cm; V_样: 加入样本体积, 0.1mL; V_{样总}: 加入提

取液体积, 1mL; T: 反应时间, 10min; Cpr: 样本蛋白质浓度,

mg/mL; 10⁹: 单位换算系数, 1mol=10⁹nmol; W: 样本质量, g。

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