

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-M48	苹果酸含量检测试剂盒	48T	微量法
PYHC9-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⁺）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 6mL×1 瓶	液体 12mL×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 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

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、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常温；
- 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（记为 A1 _{测定} 、A1 _{空白} ），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 ΔA _{测定} = A1 _{测定} - A2 _{测定} ；ΔA _{空白} = A1 _{空白} - A2 _{空白} ；ΔA = ΔA _{测定} - ΔA _{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：

$$\text{苹果酸 (nmol/min/g 鲜重)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \div T = \Delta A \times 267.95 \div W$$

2、按样本蛋白浓度计算：

$$\text{苹果酸 (nmol/min/mg prot)} = [\Delta A \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样}} \times C_{\text{pr}}) \div T = \Delta A \times 267.95 \div C_{\text{pr}}$$

V_{反应}：反应体系总体积，2×10⁻⁴ L；ε：NADH，6.22×10³ 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; Cpr: 样本蛋白质

浓度, mg/mL; 10^9 : 单位换算系数, $1\text{mol}=10^9\text{nmol}$; 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