

生化学分析および食品分析用テストコンビネーション

F-キット D-リンゴ酸
TC D-Malic Acid

製品番号
1 215 558

包装単位
3 × 10 回

UV テスト

果実、野菜製品、フルーツジュース、ワインなどの食品、医薬品、生体試料中の D-リンゴ酸の測定。

分析物

D-リンゴ酸は実際には天然に無く、いくつかの微生物の代謝産物としてのみ存在します。圧搾したばかりのフルーツジュースでは、検出限度で D-リンゴ酸が見られます。それ故、果物やフルーツジュースでの法的な限度は 10mg/l が推奨されます。D-リンゴ酸は、化学的に調製される（ラセミ体である）D-/L-リンゴ酸の成分です。実際、天然製品は D-リンゴ酸が含まれませんので、D-リンゴ酸の検出は D-/L-リンゴ酸の添加の指標となります。

原理 (1)



特異性

D-リンゴ酸は迅速に反応します。D-MDH (decarb) の副次活性は、かなりの低率で L-酒石酸と反応します。少量の酒石酸はクリーブ反応の原因となるが外挿法で除去できます。多量の酒石酸はカルシウム塩の形で除去します。

感度と測定限界

測定感度は試料量 (v) が 1.800ml の時の 0.005 吸光度に基づいています。これは 340nm で測定した際の約 0.2mg/l (試料溶液) の D-リンゴ酸濃度に相当します。0.35mg/l の D-リンゴ酸の測定限界は、最大試料量 (v) が 1.800ml の時の吸光度変化量 0.010 (340nm) に由来します。

直線性

測定の直線性は 1 µg D-リンゴ酸/アッセイ (0.35mg D-リンゴ酸/l 試料溶液: v=1.800ml) から 50 µg D-リンゴ酸/アッセイ (0.5g D-リンゴ酸/l 試料溶液: v=0.100ml) の間にあります。

正確性

一つの試料を二重測定した場合、0.005 から 0.010 の吸光度の違いが起きます。

標準偏差値は測定範囲内で約 1% です。

ワインの分析 (2.3:

$$r=0.05 \cdot X_i \quad R=0.10 \cdot X_i \\ X_i = \text{D-リンゴ酸の量 (g/l)}$$

干渉物 / 誤差の原因

食品の成分は一般的に測定に干渉しません。試料中のタンニンは反応速度を遅くします。2-オキソグルタル酸はクリーブ反応を引き起こすが、外挿法で除去できます。もし植物色素によるクリーブ反応が見られたら、試料のアッセイを試料ブランクに対して測定します。

キット内容

- 1.ヘスペスバッファー pH9.0
- 2.約 210mg NAD
- 3.3 × 約 8U D-MDH.decarb.
- 4.測定のコントロール用 D-リンゴ酸標準液 (結果の計算には測定の必要はありません。)

試薬

D-リンゴ酸の測定に用いられる試薬は危険物条令、化学法令、EEC 条令 67/548/EEC 及びその改正版、補遺、適用ガイドラインに入るような危険物ではありません。しかし使用化学物質が接触した場合の一般的な安全性は確認してください。使用後の試薬は研究室の使用品として廃棄できますが、地域の規制には常に注意してください。

試料調製の一般的情報

透明で、無色の実際的に中性の液体試料を直接、あるいは希釈後液量 1.800ml まで使用してください。

濁った溶液はろ過してください。

二酸化炭素を含む試料は脱気 (ろ過などで) してください。

酸性試料は NaOH や KOH で pH を 8~9 に調整してください。

酸性で軽く色のついた試料は pH を 8~9 に調整し、約 30 分間インキュベートしてください。

色の着いた試料は (もし必要なら pH を 8~9 に調整し) 試薬ブランクに対して測定してください。強く色のついた試料を希釈せず、多い液量で用いる場合は、活性炭やポリビニルピロリドン (PVPP) で処理してください。

固形、半固形試料は砕くか、ホモジナイズし、水で抽出するか溶解してください。

参考文献

1. Beutler, H.-O. & Wurst, B. (1990) A New Method for the Enzymatic Determination of D-Malic Acid in Foodstuffs, Deutsche Lebensmittel-Rundschau 86, 341-344 and 386-389
2. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, Complément n° 1 à l'édition officielle de juin 1990, Office International de la Vigne et du Vin (OIV), Annexe A, pp. 1-3
3. Official Journal of the European Communities L 272 (3 October 1990), Legislation: Commission Regulation (EEC) No 2676/90 of 17 September 1990 determining Community methods for the analysis of wines (pp. 106-108)
4. Beutler, H.-O. & Ara, V. (1992) Enzymatische Bestimmung von D-Äpfelsäure in Fruchtsäften, Flüssiges Obst 59, 552-554; Enzymatic Determination of D-Malic Acid in Fruit Juices, Fruit Processing 2, 140-141
5. International Federation of Fruit Juice Producers (IFU, Methods of Analysis, no. 64-1995); contained in "Code of Practice for Evaluation of Fruit and Vegetable Juices" (1996) edited by Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Economic Community (A.I.J.N.)
6. Deutsche Norm DIN EN 12138 (Dez. 1997) Frucht- und Gemüsesäfte; Enzymatische Bestimmung des Gehaltes an D-Äpfelsäure
7. Europäische Norm/European Standard EN 12138 (Dec. 1997) Fruit and vegetable juices - Enzymatic determination of D-malic acid content