SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

현장을 이해하고, 필요한 솔루션을 연결합니다.

산업안전 · 추락방지 시스템
산업용 소재 · 건축자재
제품 제안부터 공급·시공·설치·교육까지



COMPANY INFORMATION

스냅슛 (SNAPSHOOT)

ADDRESS (15431) 경기도 안산시 단원구 풍전로 37-9 트리플렉스 301동 118호
TEL 0507-1374-9229
FAX 0504-481-6749
E-MAIL bkkim@snapshoot.co.kr

TECHNICAL DOCUMENTS

인증서 · 데이터시트 · 기술자료

제품의 규격과 성능, 인증 및 적용 조건을 확인하기 위한 자료입니다.

ABOUT SNAPSHOOT

제품 공급을 넘어, 현장에 맞는 해결책으로

스냅슛은 산업현장의 작업 환경과 요구 조건을 바탕으로
적합한 제품과 시스템을 제안합니다. 현장 실사를 통해 설치 조건을 확인하고,
공급부터 시공·설치 및 사용 교육까지 필요한 과정을 함께합니다.

추락방지 시스템

안전대부착설비 · 수평·수직 라이프라인
레일 시스템 · 리지드 포스트

밀폐공간 진입·구조 솔루션

데빗암 · 삼각대 · 구조용 윈치
윈치 안전블록 · 구조장비

산업안전 보호구

전신형 안전대 · 랜야드 · 안전블록
작업 환경에 맞춘 개인보호구

산업용 소재·건축자재

산업용 테이프 · 접착제 · 기능성 소재
구조용 스크류 · 목조건축 자재

SNAPSHOOT
ENGINEERED FOR A SAFER TOMORROW

홈페이지 바로가기 →
문서 라이브러리 바로가기 →
시공사례 바로가기 →
문의하기 →

본 페이지는 스냅슛의 자료 제공 안내용 표지입니다. 첨부된 인증서 및 기술자료의 발행 주체, 인증 대상과 적용 범위는 해당 원문을 기준으로 확인해 주세요.

ÁCIDO L-MÁLICO
(LIQUID READY™)

INSTRUCCIONES DEL PRODUCTO

SKU: 700007622
K-LMLQR

04/24

(50 ensayos manuales por kit) o
(500 ensayos de autoanalizador por kit)

© 2024, Neogen Corporation. Todos los derechos reservados.
Neogen, Megazyme, Liquid Ready y MegaCalc son marcas comerciales de Neogen Corporation. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

INTRODUCCIÓN:

Como componente del ciclo del ácido cítrico, el ácido L-málico (L-malato) se encuentra en todos los organismos vivos. Su determinación cuantitativa es especialmente importante en la fabricación de vino, cerveza, pan, productos hortofrutícolas, así como en cosméticos y productos farmacéuticos. Es uno de los ácidos frutales más importantes y tiene la mayor concentración de todos los ácidos del vino. En la industria vinícola, el nivel de ácido L-málico se controla, junto con el ácido L-láctico, durante la fermentación maloláctica. El ácido L-málico tiene muchas aplicaciones como conservante alimentario (E296) y potenciador del sabor, por ejemplo en la fabricación de bebidas bajas en calorías.

PRINCIPIO:

La detección del ácido L-málico requiere dos reacciones enzimáticas. En la primera reacción catalizada por L-malato deshidrogenasa (L-MDH), el ácido L-málico es oxidado a oxaloacetato por nicotinamida-adenina dinucleótido (NAD^+) (1).

(1) Ácido L-málico + NAD^+ $\xleftarrow{\text{(L-MDH)}}$ oxaloacetato + NADH + H^+

Sin embargo, dado que el equilibrio de la reacción (1) está firmemente a favor del ácido L-málico y del NAD+, se requiere otra reacción para "atrapar" el producto de NADH, y esto se consigue mediante la conversión de oxaloacetato en L-aspartato y 2-oxoglutarato, en presencia de un gran exceso de L-glutamato, por glutamato-oxaloacetato transaminasa (GOT) (2).

(2) Oxaloacetato + L-glutamato $\xrightarrow{\text{(GOT)}}$ L-aspartato + 2-oxoglutarato

La cantidad de NADH formada en la reacción anterior es estequiométrica con la cantidad de ácido L-málico. NADPH se mide por el aumento de la absorbancia a 340 nm.

ESPECIFICIDAD, SENSIBILIDAD Y LINEALIDAD:

- El ensayo es específico para ácido L-málico
- El límite de detección (LOD) es de 0,002 g/L, y el límite de cuantificación (LOQ) es de 0,006 g/L (utilizando un volumen de muestra de 0,1 mL).
- El intervalo de medición recomendado se sitúa entre 0,02 y 1,0 g/L (utilizando un volumen de muestra de 0,1mL). Esto corresponde a de 2 a 100 µg de ácido L-málico por ensayo.

INTERFERENCIAS:

No se han identificado compuestos interferentes.

SEGURIDAD:

Deben respetarse las medidas de seguridad generales que se aplican a todas las sustancias químicas. Tras su uso, los reactivos pueden eliminarse con los residuos de laboratorio.

NOTA: Para obtener más información sobre el rendimiento de este producto, consulte el informe de validación asociado disponible en el sitio web de Megazyme. Para más información sobre el uso y manipulación seguros de este producto, consulte la FDS asociada disponible en el sitio web de Megazyme.

CONTENIDO DEL KIT:

Kit adecuado para formato manual y automatizado. Los reactivos son suficientes para realizar 50 ensayos en formato manual o 500 ensayos en formato autoanalizador. El kit contiene:

Reactivo 1 (2 x 50 mL): L-Glutamato
Contiene azida sódica (0,05 % *w/v*) como conservante. Listo para usar.
Conservar a 4 °C. Consulte la fecha de caducidad en cada etiqueta.

Reactivo 2 (2 x 12,5 mL): NAD, L-MDH, GOT
Contiene azida sódica (0,05 % *w/v*) como conservante. Listo para usar.
Conservar a 4 °C. Consulte la fecha de caducidad en cada etiqueta.

Estándar (5 mL); Solución estándar de Ácido L-málico (1 g/L).
Contiene azida sódica (0,05 % *w/v*) como conservante. Listo para usar.
Conservar a 4 °C. Consulte la fecha de caducidad en cada etiqueta.

NOTA: La solución estándar de ácido L-málico solo se ensaya cuando existan dudas sobre la precisión del espectrofotómetro utilizado o cuando se sospeche que la inhibición está siendo causada por sustancias presentes en la muestra. La concentración de ácido L-málico se determina directamente a partir del

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES DE REACTIVO:

Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de su uso.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO MANUAL:

Longitud de onda: 340 nm
Cubeta: Camino óptico de 1 cm (vidrio o plástico)
Temperatura: 20 - 37 °C
Volumen final: 2,60 mL
Solución de muestra: 2 - 100 µg de ácido L-málico por cubeta
Blanco de espectrofotómetro: utilizar una cubeta vacía o con agua destilada

Pipeta en cubetas	Blanco	Muestra
Reactivo 1	2,0 mL	2,0 mL
Muestra	-	0,1 mL
Agua destilada	0,1 mL	-
Mezclar*, incubar durante ~ 3 minutos a 20 - 37 °C, a continuación, leer las absorbancias (A_1). Añadir el reactivo 2 como se indica a continuación:		
Reactivo 2	0,5 mL	0,5 mL
Mezclar*, incubar durante ~ 5 minutos a 20 -37°C, a continuación, leer las absorbancias (A_2). **		

* por aspiración con la punta de pipeta utilizada para dispensar el líquido o por inversión suave tras sellar la cubeta con un tapón de cubeta o Parafilm®.
** Puede ser necesario comprobar si la reacción se ha completado continuando la lectura de las absorbancias a

intervalos de 1 minuto. Si la reacción no se ha completado, continuar midiendo las absorbancias hasta que los valores medidos permanezcan iguales o aumenten constantemente durante 1 min. Si esta tasa de incremento es mayor para la muestra que para el blanco, extrapolar las absorbancias (muestra y blanco) al momento de la adición del reactivo 2.

NOTA: El valor del blanco de reactivo debe determinarse una vez para cada serie y restarse de cada resultado de la muestra.

CÁLCULO:

NOTA: Estos cálculos pueden simplificarse utilizando la herramienta *MegaCalc*™, que se puede descargar desde la página del producto.

1. Cálculo del factor de dilución (df)

Determinar el factor de dilución (df) de las densidades ópticas debido al volumen de reactivo.

$$df = \frac{\text{(Volumen de muestra [mL] + Volumen de R1 [mL])}}{\text{Volumen total de la reacción [mL]}}$$

A continuación, según el procedimiento de ensayo manual de ácido L-málico:

$$df = \frac{0{,}1 + 2{,}0}{2{,}6} = 0{,}808$$

2. Cálculo de la diferencia de absorbancia $\Delta A_{\text{ácido L-málico}}$

$$\Delta A_{\text{ácido L-málico}} = (A_2 - df \times A_1)_{\text{muestra}} - (A_2 - df \times A_1)_{\text{blanco}}$$

A continuación, según el procedimiento de ensayo manual de ácido L-málico:

$$\Delta A_{\text{ácido L-málico}} = (A_2 - 0{,}808 \times A_1)_{\text{muestra}} - (A_2 - 0{,}808 \times A_1)_{\text{blanco}}$$

NOTA: El aumento o la disminución del volumen de la muestra dejando los volúmenes de reactivo inalterados requiere un nuevo cálculo del factor de dilución; si se modifican los volúmenes, el rendimiento puede verse afectado.

3. Cálculo del contenido en ácido L-málico

La concentración de ácido L-málico puede calcularse del siguiente modo:

$$c = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A_{\text{ácido L-málico}} \quad [g/L]$$

donde:

V = volumen final [mL]

MW = peso molecular de ácido L-málico [g/mol].

ε = coeficiente de extinción de NADH a 340 nm [l x mol^{-1} x cm^{-1}]

d = camino óptico [cm]

v = volumen de muestra [mL]

A continuación, según el procedimiento de ensayo manual de ácido L-málico:

$$c = \frac{2,6 \times 134,09}{6300 \times 1,0 \times 0,1} \times \Delta A_{\text{ácido L-málico}} \quad [g/L]$$

$$= 0,5534 \times \Delta A_{\text{ácido L-málico}} \quad [g/L]$$

Si la muestra se ha diluido durante la preparación, el resultado debe multiplicarse por el factor de dilución, F.

4. Cálculo del contenido de ácido L-málico residual en muestras sólidas o semisólidas:

Cuando se analizan muestras sólidas y semisólidas que se pesan para la preparación de la muestra, el contenido (g/100 g) se calcula a partir de la cantidad pesada de la siguiente manera:

$$\frac{c_{\text{Ácido L-málico}}\ [g/L \text{ de solución de muestra}]}{\text{peso}_{\text{muestra}}\ [g/L \text{ solución de muestra}]} \times 100 \quad [g/100\ g]$$

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO DE AUTOANALIZADOR:

Este kit se ha diseñado para analizadores automáticos de bioquímica y puede adaptarse a la mayoría de los instrumentos. A continuación, se presenta un método de muestra (validado en el analizador Awareness ChemWell®-T).

NOTA: Para cada lote de muestras que se aplique a la determinación de ácido L-málico debe realizarse simultáneamente una curva de calibración utilizando el mismo lote de reactivos.

Parámetro	**Detalles**
Longitud de onda	340/405 nm (primario/secundario)
Temperatura	20 - 37 °C
Prueba	Prueba de punto final con la siguiente secuencia de prueba: – Añadir reactivo 1 **[0,2 mL]** – Añadir muestra o calibrador **[0,01 mL]** – Pre-incubar 1-3 min [20 - 37 °C] – Medir A_1 a 340/405 nm – Añadir reactivo 2 **[0,05 mL]** – Incubar 5 min [20 - 37 °C] – Medir A_2 a 340/405 nm – Calcular $A_2 – A_1$ contra curva de calibración
Calibración	Calibrar utilizando 2 - 4 calibradores que oscilen entre 0 - 1,0 g/L. La curva de calibración es lineal. A continuación, se muestra un ejemplo de cómo utilizar el estándar suministrado con el kit para crear una curva de calibración: Calibrador 1 0 g/L (usar agua destilada) Calibrador 2 0,1 g/L (diluir el estándar 10 veces) Calibrador 3 0,5 g/L (diluir el estándar 2 veces) Calibrador 4 1,0 g/L (usar el estándar tal como está) *Realizar todas las diluciones con agua destilada.*

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

1. Dilución de muestras

La cantidad de ácido L-málico presente en la cubeta debe oscilar entre 0,02 g/L y 1,0 g/L. Si el valor de $\Delta A_{\text{ácido málico}}$ es demasiado bajo (por ejemplo, <0,1), pesar más muestra o disminuir la dilución. Si el valor de $\Delta A_{\text{ácido L-málico}}$ es demasiado alto (por ejemplo, >2,0 en total), aumentar la dilución en agua destilada.

Tabla de dilución

Concentración estimada en la muestra (g/L)	Dilución recomendada con agua destilada	Factor de dilución (F)
<1,0	Sin dilución	1
1,0 – 10	1 mL de muestra + 9 mL de agua destilada	10
10 – 150	1 mL de muestra + 99 mL de agua destilada	100

2. Guía general de preparación de muestras

- Las muestras líquidas, claras, ligeramente coloreadas y aproximadamente neutras, con una concentración de hasta 1,0 g/L, pueden utilizarse directamente en el ensayo.
- Las muestras turbias deben filtrarse o centrifugarse.
- Las muestras ácidas (pH < 3,0) deben neutralizarse hasta alcanzar aproximadamente un pH de 8,0.
- Las muestras que contengan dióxido de carbono deben desgasificarse mediante agitación suave o agitación con una varilla de vidrio.
- Las muestras sólidas deben homogeneizarse, extraerse en agua y filtrarse o centrifugarse si es necesario.
- Las muestras muy coloreadas deben tratarse añadiendo 0,2 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) por 10 mL de muestra en un tubo. Agitar enérgicamente el tubo durante 5 minutos y filtrar con papel de filtro.
- Desproteinizar las muestras utilizando el kit de clarificación Megazyme Carrez (K-CARREZ).
- Eliminar la grasa utilizando el kit de clarificación Megazyme Carrez (K-CARREZ).

3. Ejemplos sugeridos de preparación de muestras

(a) Determinación de ácido L-málico en el vino. Usar un filtro de jeringa de 0,2 micras para clarificar. Alternativamente, centrifugar una alícuota de vino durante 5 minutos a 15.000 g.
Normalmente, se requiere una dilución de 3 veces en agua destilada.

(b) Determinación del ácido L-málico en zumos de frutas (por ejemplo, zumo de manzana). Usar un filtro de jeringa de 0,2 micras para clarificar. Alternativamente, centrifugar una alícuota de zumo durante 5 minutos a 15.000 g.

Normalmente, se requiere una dilución de 50 veces en agua destilada.

(c) Determinación de ácido L-málico en la cerveza (por ejemplo, Lager). Eliminar la carbonatación agitando una muestra en un vaso de precipitados durante aproximadamente 60 segundos utilizando una varilla de vidrio. Pasar a través de un filtro de jeringa de 0,2 micras y utilizar el filtrado claro en el ensayo.
Normalmente, no se requiere dilución.

(d) Determinación de ácido L-málico en productos de confitería (por ejemplo, Haribo Tangfastics). Pesar con precisión 4 g de confitería en una probeta graduada de 100 mL y ajustar a 100 mL con agua destilada. Añadir el contenido de la probeta a una batidora y batir durante 30 segundos, o hasta que esté homogéneo. Dejar que se asiente la espuma que se haya formado y el líquido podrá utilizarse en el protocolo de ensayo sin más tratamiento.
Normalmente, no se requiere dilución.

(e) Determinación de ácido L-málico en frutas y hortalizas (por ejemplo, brócoli). Homogeneizar las muestras sólidas en una batidora. Pesar 5 g de brócoli en un vaso de precipitados y extraer con 70 mL de agua destilada calentada a 60 °C. Transferir cuantitativamente a un matraz aforado de 100 mL. Llenar hasta la marca con agua, mezclar, filtrar utilizando un filtro de papel y utilizar el filtrado claro en el ensayo.
Normalmente, no se requiere dilución.

NOTA IMPORTANTE: Los usuarios deben realizar una validación interna de la matriz antes de su uso rutinario. Este proceso pondrá de relieve las matrices problemáticas encontradas. Los anteriores son solo ejemplos sugeridos de preparación de muestras. Si tiene alguna pregunta sobre estas u otras matrices, póngase en contacto con su representante de ventas local para obtener asistencia.

SERVICIOS Y ASISTENCIA TÉCNICA

Póngase en contacto con su representante de ventas local si necesita ayuda, sobre todo en relación con:

- Resolución de problemas
- Análisis de datos
- Pruebas matriciales adicionales
- Asistencia de aplicación en relación con los analizadores automatizados

Los documentos de apoyo se encuentran en la página del producto:

- Guía de consulta rápida (Quick Reference Guide) – solamente en inglés
- MegaCalc™
- Fichas de datos de seguridad (FDS)
- Certificados de análisis (COA)
- Informe de validación (Validation report) - solamente en inglés

Póngase en contacto con nosotros para obtener más información: neogen.com/contact

Sin garantía

La información contenida en este protocolo de ensayo es, a nuestro leal saber y entender, veraz y exacta, pero dado que las condiciones de uso están fuera de nuestro control, no se ofrece ni se implica ninguna garantía respecto a cualquier recomendación o sugerencia que pueda hacerse o que cualquier uso no infrinja ninguna patente. Es responsabilidad del usuario realizar un trabajo interno de validación de la matriz antes de su uso rutinario.

© 2024, Neogen Corporation. Todos los derechos reservados.
Neogen, Megazyme, Liquid Ready y MegaCalc son marcas comerciales de Neogen Corporation. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.