

丙二醛（MDA）含量检测试剂盒（可见分光光度法）

产品货号：BA1065

产品规格：50管/48样

产品说明：

氧自由基作用于脂质的不饱和脂肪酸，生成过氧化脂质；后者逐渐分解为一系列复杂的化合物，其中包括丙二醛（MDA）。通过检测MDA的水平即可检测脂质氧化的水平。

丙二醛（MDA）在酸性和高温条件下，可以与硫代巴比妥酸（thiobarbituric acid, TBA）缩合，生成棕红色的三甲川（3,5,5-三甲基恶唑-2,4-二酮），其最大吸收波长在532nm。进行比色后可估测样本中过氧化脂质的含量。但是测定动植物组织中MDA时受多种物质的干扰，其中最主要的是可溶性糖，其与TBA显色反应产物的最大吸收波长在450nm，但532nm处也有吸收。所以同时测定600nm、532nm、450nm下的吸光度，利用532nm与450nm、600nm下的吸光度的差值计算MDA的含量。

由于植物中受蔗糖干扰较大，动物中受葡萄糖干扰较大，所以本试剂盒有针对蔗糖和葡萄糖的两个公式。若所测样本为油脂类物质，则两个公式均可。

注意：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。

产品内容：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液50mL×1瓶	4℃
试剂一	液体30mL×1瓶	4℃
试剂二	粉剂×2瓶	4℃
试剂三	液体10mL×1瓶	4℃

溶液的配制：

1. MDA检测工作液的配制：用时在每瓶试剂二中加入15mL试剂一，溶解混匀，4℃保存待用。MDA检测工作液较难溶解，可以70℃加热，并剧烈振荡以促进溶解，或者通过超声处理以促进溶解。

所需的仪器和用品：

可见分光光度计、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、1mL玻璃比色皿、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 细菌、细胞样本的制备：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每500万细菌或细胞加入1mL提取液，超声波破碎细菌或细胞（功率20%，超声3s，间隔10s，重复30次）；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
2. 组织样本的制备：称取约0.1g组织，加入1mL提取液进行冰浴匀浆；8000g 4℃离心10min，取上清，置冰上待测。
3. 血清（浆）：直接检测。

二、测定步骤

1. 分光光度计预热30min以上，蒸馏水调零。
2. 按下表步骤加样：



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

试剂名称 (μL)	测定管	空白管
MDA 检测工作液	600	600
蒸馏水	-	200
样本	200	-
试剂三	200	200

混合液在100℃水浴中保温60min后（盖紧，防止水分散失），置于冰浴中冷却，10000g，常温，离心10min。取上清至1mL玻璃比色皿中，测定各样本在450nm、532nm和600nm处的吸光度，分别计算 $\Delta A_{450}=A_{450\text{测定}}-A_{450\text{空白}}$ ， $\Delta A_{532}=A_{532\text{测定}}-A_{532\text{空白}}$ ， $\Delta A_{600}=A_{600\text{测定}}-A_{600\text{空白}}$ 。（空白管只需做1-2次）

三、MDA含量计算

1. 细菌、细胞或动物组织中MDA含量计算

(1) 按照蛋白浓度计算

$$\text{MDA含量 (nmol/mg prot)} = (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) \\ = 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \div \text{Cpr}$$

(2) 按照样本质量计算

$$\text{MDA含量 (nmol/g质量)} = (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ = 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \div W$$

(3) 按照细菌或细胞数量计算

$$\text{MDA含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} = (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (500 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ = 0.01 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450})$$

(4) 按照血清（浆）体积计算

$$\text{MDA含量 (nmol/mL)} = (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div V_{\text{样本}} \\ = 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 1.29 \times \Delta A_{450})$$

V总：反应体系总体积，1mL；V样本：加入样本体积，0.2mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；500：细胞或细菌总数，500万；V提取：提取液体积，1mL。

2. 植物组织中MDA含量计算

(1) 按照样本质量计算

$$\text{MDA含量 (nmol/g 质量)} = (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}}) \\ = 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \div W$$

(2) 按照蛋白浓度计算

$$\text{MDA含量 (nmol/mg prot)} = (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}}) \\ = 5 \times (6.45 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 0.56 \times \Delta A_{450}) \div \text{Cpr}$$

V总：反应体系总体积，1mL；V样本：加入样本体积，0.2mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；V提取：提取液体积，1mL。

注意事项：

若发现检测样本吸光值过低，可以将沸水浴时间60min调整为90min或者更长，但同一实验中的MDA的检测都需要延长到同一时间以免引起误差。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com