

## 丙二醛(MDA)含量检测试剂盒（微量法）

正式测定前务必取2-3个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1066

产品规格：100管/96样

产品内容：

提取液：液体100mL×1瓶，4℃保存；

试剂一：液体30mL×1瓶，4℃保存；

试剂二：粉剂×2瓶，4℃保存；

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。

试剂三：液体10mL×1瓶，4℃保存；

**注意事项：**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。

**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品中过氧化脂质的含量。但是测定植物组织中MDA时受多种物质的干扰，其中最主要的是可溶性糖，糖与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。若所测样品为油脂类物质，则两个公式均可。

**需自备的仪器和用品：**

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、台式离心机、可调式移液器、微量玻璃比色皿/96孔板、研钵、冰和蒸馏水。

**操作步骤：**

### 一、MDA提取：

1、细菌或细胞样品的制备：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照每400万细菌或细胞加入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、组织样品的制备：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。

### 二、测定操作：

1、可见分光光度计/酶标仪预热30min以上，蒸馏水调零。

2、按下表步骤加样：

| 试剂名称                      | 测定管 |
|---------------------------|-----|
| MDA检测工作液（ $\mu\text{L}$ ） | 300 |
| 样本（ $\mu\text{L}$ ）       | 100 |
| 试剂三（ $\mu\text{L}$ ）      | 100 |

混合液在100℃水浴中保温30min后（盖紧，防止水分散失），置于冰浴中冷却，10000g，常温，离心10min。吸取200 $\mu\text{L}$ 上清液于微量玻璃比色皿或96孔板中，测定各样品在450nm、532nm和600nm处的吸光度。

### 三、MDA含量计算：

a. 按96孔板计算



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

### 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

$$\text{MDA含量 (nmol/ mg prot)} = (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 2.58 \times A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}})$$

$$= 5 \times (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 2.58 \times A_{450}) \div \text{Cpr}$$

#### (2) 按照样品质量计算

$$\text{MDA 含量 (nmol/ g 鲜重)} = (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 2.58 \times A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}})$$

$$= 5 \times (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 2.58 \times A_{450}) \div W$$

#### (3) 按照细菌或细胞密度计算:

$$\text{MDA 含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} = (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 2.58 \times A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (400 \div V_{\text{提取}} \times V_{\text{样本}})$$

$$= 0.125 \times (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 2.58 \times A_{450})$$

V总: 反应体系总体积, 0.5mL; V样品: 加入样品体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。 W: 样品质量, g; 400: 细胞或细菌总数, 400万; V提取: 提取液体积, 1mL。

### 2、植物组织中MDA含量计算

#### (1) 按照样品质量计算

$$\text{MDA含量 (nmol/ g鲜重)} = (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.12 \times A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (W \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}})$$

$$= 5 \times (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.12 \times A_{450}) \div W$$

#### (2) 按照蛋白浓度计算

$$\text{MDA含量 (nmol/ mg prot)} = (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.12 \times A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样本}})$$

$$= 5 \times (12.9 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.12 \times A_{450}) \div \text{Cpr}$$

V总: 反应体系总体积, 0.5mL; V样品: 加入样品体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。 W: 样品质量, g; V提取: 提取液体积, 1mL。

### b. 按微量比色皿计算

#### 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

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

$$= 5 \times (6.45 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.29 \times A_{450}) \div \text{Cpr}$$

##### (2) 按照样品质量计算

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

$$= 5 \times (6.45 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.29 \times A_{450}) \div W$$

##### (3) 按照细菌或细胞密度计算:

$$\text{MDA 含量 (nmol/10}^4 \text{ cell)} = (6.45 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.29 \times A_{450}) \times V_{\text{总}} \div (400 \times V_{\text{样本}} \div V_{\text{提取}})$$

$$= 0.0125 \times (6.45 \times (A_{532}-A_{600}) - 1.29 \times A_{450})$$

V总: 反应体系总体积, 0.5mL; V样品: 加入样品体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。 W: 样品质量, g; 400: 细胞或细菌总数, 400万; V提取: 提取液体积, 1mL。

#### 2、植物组织中MDA含量计算

##### (1) 按照样品质量计算

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

$$= 5 \times (6.45 \times (A_{532}-A_{600}) - 0.56 \times A_{450}) \div W$$

##### (2) 按照蛋白浓度计算

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

$$= 5 \times (6.45 \times (A_{532}-A_{600}) - 0.56 \times A_{450}) \div \text{Cpr}$$

V总: 反应体系总体积, 0.5mL; V样品: 加入样品体积, 0.1 mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。 W: 样品质量, g; V提取: 提取液体积, 1mL。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com