食品丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

产品简介:

动物或植物细胞发生氧化应激(oxidative stress)时，会发生脂质氧化。丙二醛(Malondialdehyde, MDA)是一种生物体脂质氧化的天然产物，一些脂肪酸氧化后逐渐分解为一系列包括 MDA 在内的复杂化合物，此时通过检测 MDA 的水平即可检测脂质氧化的水平，因此 MDA 的测定被广泛用作脂质氧化的指标。生物体内的一些其它生化反应也会产生 MDA，例如 thromboxane synthase 也可以催化产生，但只要在测定时设置适当对照即可观察到脂质氧化水平的变化。

食品丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)的原理是食品或饲料中的丙二醛经三氯乙酸溶液提取后，与硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid, TBA)作用产生红色化合物的显色反应，测定其在 532nm 波长处的吸光度值，再与系列标准进行比较定量，本产品不适用于细胞、血液等的丙二醛的测定。本产品仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCTO1026 50T	Storage
试剂(A): MDA 提取试剂(2.5×)	250ml	RT 避光
试剂(B): 硫代巴比妥酸(TBA)	0.3g	RT 避光
试剂(C): MDA 标准品(100μg/ml)	0.5ml	-20℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、 食品、饲料等待测样品、蒸馏水或去离子水

2、 天平(精确至 0.01g)、离心机、离心管或小试管、慢速定量滤纸

3、 分光光度计、比色皿、水浴锅或恒温箱、恒温振荡器或匀浆器

操作步骤(仅供参考):

1、 配制 MDA 提取试剂(1×): 取 1 份 MDA 提取试剂(2.5×)，再加入 1.5 份蒸馏水混合即可。

2、 配制 TBA 工作液: 称取适量 TBA，用蒸馏水配制成浓度为 0.3%的 TBA 工作液。TBA 工作液需完全溶解后再使用，可以加热到 60℃促溶，并可通过反复剧烈 Vortex 促溶。配制好的 TBA 工作液 4℃避光保存，1 个月内有效。

3、 制备样品 MDA 提取液: 精确称取 0.50~1.00g 样品加入 10ml MDA 提取试剂(1×)，摇匀，(也可用匀浆器充分匀浆)置于恒温振荡器上 50℃振摇 60min，取出冷却至室温，用

双层慢速定量滤纸过滤，取滤液备用；亦可采用 5000r/min 离心 15min，取上清液备用，该上清液即为 MDA 提取液。

4、 稀释标准品：首先将 MDA 标准品(100μg/ml)用 MDA 提取试剂(1×)稀释至 MDA 标准品(1.0μg/ml)，4℃避光保存，2 周内有效。如果进行简易快速检测，可将标准品再稀释至 0.20μg/ml；如果进行精确检测，则按下表稀释至 0.01、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30μg/ml 等系列浓度梯度；低浓度的标准梯度需现用现配。

5、 MDA 加样：(如果样品 MDA 提取液颜色较深，可将其用 MDA 提取试剂(1×)稀释至本底颜色较浅时再测定。如果样品 MDA 提取液无颜色，可不测定样品对照管。)

加入物质(ml)	空白管	标准管	样品对照管	样品测定管
MDA 提取试剂(1×)	1.5	—	—	—
标准品(系列 MDA 标准)	—	1.5	—	—
MDA 提取液	—	—	1.5	1.5
TBA 工作液	1.5	1.5	—	1.5
蒸馏水	—	—	1.5	—
加样完成后混匀，加盖，90℃水浴煮沸 30min。冷水浴或流水冷却至室温。				

6、MDA 测定：用分光光度计或酶标仪测定各管 532nm 处吸光度，如果不方便也可以测定 530~540nm 之间的吸光度，分别记为 $A_{空白}$、$A_{标准}$、$A_{样品对照}$、$A_{样品测定}$。

计算： 如果进行简易快速检测，直接以 0.20μg/ml 标准品进行计算，获得样品 MDA 的浓度；如果需要精确计算，以 MDA 标准品浓度为横坐标，以对应的吸光度($A_{标准}$-$A_{空白}$)为纵坐标，制作标准曲线，根据标准曲线计算出样品 MDA 的浓度，进而可计算出样品单位质量中 MDA 的含量。

简易快速 MDA 含量计算公式：

MDA 含量(μg/g)=($A_{样品测定}$- $A_{样品对照}$)/($A_{标准}$-$A_{空白}$)×标准品浓度×稀释倍数×V/m

或 MDA 含量(μg/g)=($A_{样品测定}$- $A_{空白}$)/($A_{标准}$-$A_{空白}$)×标准品浓度×稀释倍数×V/m

根据标准曲线计算 MDA 含量公式：

MDA 含量(μg/g)=c×稀释倍数×V/m

式中：$A_{样品测定}$=待测样品在 532nm 处吸光度

$A_{样品对照}$=待测样品在 532nm 处本底的吸光度

$A_{标准}$=标准品在 532nm 处吸光度

$A_{空白}$=空白对照在 532nm 处吸光度

标准品浓度=0.20μg/ml

V=样品 MDA 提取液定容体积(ml)

m=样品取样质量(g)

c=从标准曲线中得出的样品 MDA 浓度(μg/ml)

注意事项:

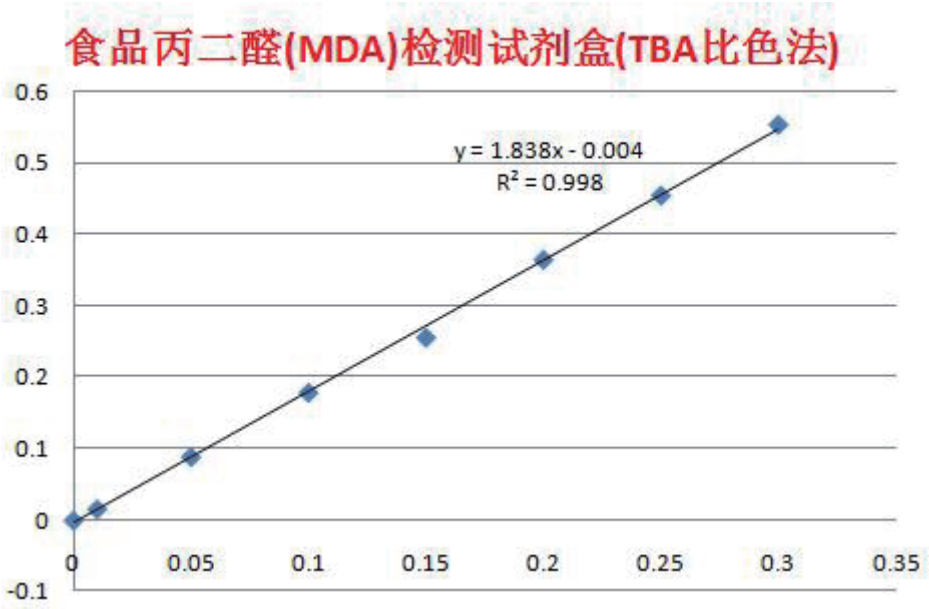
1、 上述低温试剂避免反复冻融，以免失效或效率下降。
2、 如果没有分光光度计，也可以使用酶标仪测定，检测样品量会增加。
3、 MDA 提取试剂含三氯乙酸，有腐蚀性，应小心操作。
4、 待测样品尽量新鲜，提取后应尽快检测，以免活性下降。
5、 待测 MDA 提取液如不能及时测定，应置于-20℃保存，4 天内稳定。、
6、 加热时务必注意避免液体暴沸溅出。如果使用加热块(Heat block)进行加热注意用重物压紧离心管盖；如果使用沸水浴，则需使用可把盖子锁死的离心管或螺旋盖离心管，或用 Parafilm 封住离心管口，用针头刺一小孔。最方便和准确的加热方法是使用带有热盖并可以加热的金属浴或者 0.5ml PCR 仪。
7、 计算结果应以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留两位有效数字。
8、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
9、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期: 6 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCCA0005	氨苄青霉素溶液(Ampicillin,50mg/ml)
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCDP0013	GUS 染色液(即用型)
GCDZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
GCPE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

附录：参考标准曲线范围：测定 MDA 标准在 0.20μg/ml 时，通过酶标仪 540nm 测定其吸光度多在 0.3~0.5 之间。MDA 标准在 0.01、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30μg/ml 等系列浓度梯度时吸光度，据此 Leagene 作出其标准曲线如下：



注意：由于检测仪器和操作手法等条件的不同，参考值范围会有波动，该值仅供参考，对于要求精确计算 MDA 含量的，可以进行多点测定；根据测定经验显示，标准品浓度在 0.05μg/ml 以下，标准曲线会有偏差。