

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

## **Elabscience®丙二醛(MDA)比色法测试盒(测植物)**

**Malondialdehyde (MDA) Colorimetric**

**Assay Kit (Plant Samples)**

**产品货号: E-BC-K027-M**

**产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)**

**检测仪器: 酶标仪 (525-535 nm)**

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

销售部电话                      027-87879180, 027-87854967

技术部电话                      13129966790

电子邮箱(销售)                [Perry@elabscience.cn](mailto:Perry@elabscience.cn)

电子邮箱(技术)                [biochemical@elabscience.cn](mailto:biochemical@elabscience.cn)

网址                                [www.elabscience.cn](http://www.elabscience.cn)

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

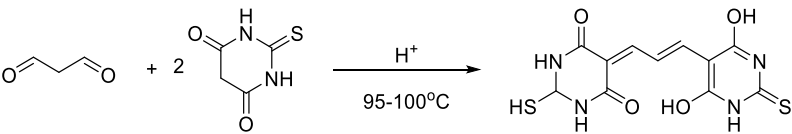
联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测植物组织中的 MDA 含量。

检测原理

过氧化脂质降解产物中的丙二醛（MDA）在高温及酸性环境下可与硫代巴比妥酸（TBA）反应产生红棕色产物 3,5,5'-三甲基恶唑 2,4-二酮（三甲川），该物质在 532nm 处有最大吸收峰，其颜色的深浅与 MDA 含量呈正比，通过比色可计算出 MDA 含量。其检测原理如下图。



提供试剂和物品

| 编号                 | 名称                                              | 规格 1<br>(Size 1)(48 T) | 规格 2<br>(Size 2)(96 T) | 保存方式<br>(Storage) |
|--------------------|-------------------------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------|
| 试剂一<br>(Reagent 1) | 澄清剂(Clarificant)                                | 1.5 mL×1 支             | 1.5 mL×2 支             | 2-8℃ 保存<br>6 个月   |
| 试剂二<br>(Reagent 2) | 酸试剂(Acid Reagent)                               | 45 mL×1 瓶              | 45 mL×2 瓶              | 2-8℃ 保存<br>6 个月   |
| 试剂三<br>(Reagent 3) | 显色剂(Chromogenic Agent)                          | 15 mL×1 瓶              | 30 mL×1 瓶              | 2-8℃避光<br>保存 6 个月 |
| 试剂四<br>(Reagent 4) | 200 nmol/mL 标准品<br>(200 nmol/mL Standard)       | 5 mL×1 瓶               | 5 mL×1 瓶               | 2-8℃ 保存<br>6 个月   |
| 试剂五<br>(Reagent 5) | 提取液<br>(10×Concentrated<br>Extraction Solution) | 40 mL×1 瓶              | 40 mL×1 瓶              | 2-8℃ 保存<br>6 个月   |
|                    | 96 孔酶标板                                         | 1 板                    |                        |                   |
|                    | 96 孔覆膜                                          | 2 张                    |                        |                   |
|                    | 样本位置标记表                                         | 1 张                    |                        |                   |

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂,使用前请先离心,以免量取不到足够量的试剂。

## 所需自备物品

**仪器：**酶标仪（525-535 nm）、涡旋混匀仪、微量移液器（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，100  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、恒温水浴箱、离心机。

**耗材：**枪头（1000  $\mu\text{L}$ ，200  $\mu\text{L}$ ，10  $\mu\text{L}$ ）、EP 管（1.5 mL）、保鲜膜。

**试剂：**双蒸水、无水乙醇。

## 试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂一-2-8 $^{\circ}\text{C}$ 存放时会凝固，使用前37 $^{\circ}\text{C}$ 加热，直到透明方可使用。

③ 工作液的配制：

按试剂一：试剂二：试剂三为0.1：3：1的体积比混匀，现配现用，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下可保存7天。

④ 试剂五应用提取液的配制：

按试剂五：双蒸水为1：9的体积比混匀即可。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

| 编号                                   | ①    | ②   | ③   | ④   | ⑤   | ⑥   | ⑦   | ⑧   |
|--------------------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准品浓度<br>(nmol/mL)                   | 0    | 5   | 10  | 15  | 20  | 30  | 40  | 50  |
| 200 nmol/mL 标准品<br>( $\mu\text{L}$ ) | 0    | 25  | 50  | 75  | 100 | 150 | 200 | 250 |
| 无水乙醇 ( $\mu\text{L}$ )               | 1000 | 975 | 950 | 925 | 900 | 850 | 800 | 750 |

样本准备

① 样本处理

组织样本：常规匀浆处理(匀浆介质为试剂五应用提取液)。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.17-50 nmol/mL，请参考下表稀释(仅供参考)：

| MDA 含量 (nmol/mL) | 样本与稀释液的体积比 | 稀释倍数 |
|------------------|------------|------|
| <50              | 不稀释        | 1    |
| 50-500           | 1:9        | 10   |

注：稀释液为试剂五应用提取液。

实验关键点

① 水浴反应 40 min 时温度要控制在 95-100℃。

② 水浴反应中，不可直接盖紧 EP 管，应用保鲜膜封紧试管口并在保鲜膜上扎气孔。

操作步骤

- ① 标准管:取 100  $\mu$ L 8 个不同浓度的标准品,分别加入对应的 1.5 mL EP 管中。  
测定管:取 100  $\mu$ L 待测样本,加入 1.5 mL EP 管。
- ② 向步骤①中的各管加入 600  $\mu$ L 工作液。
- ③ 涡旋混匀,EP 管口用保鲜膜扎紧,并在保鲜膜上扎一个小孔,95℃ 以上水浴 40 min。
- ④ 取出后流水冷却至室温,2000 $\times$ g 离心 10 min。
- ⑤ 取 250  $\mu$ L 上清液加入酶标板对应位置,酶标仪 532 nm,测定其 OD 值。

操作表

|                                                                                                                      | 标准管 | 测定管 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 不同浓度标准品( $\mu$ L)                                                                                                    | 100 |     |
| 待测样本( $\mu$ L)                                                                                                       |     | 100 |
| 工作液( $\mu$ L)                                                                                                        | 600 | 600 |
| 涡旋混匀后,EP 管口用保鲜膜扎紧,并扎一个小孔,95℃ 以上水浴 40 min。取出后流水冷却至室温,2000 $\times$ g 离心 10 min。取 250 $\mu$ L 上清液加入酶标板,532 nm,测定 OD 值。 |     |     |

## 结果计算

标准品拟合曲线： $y = ax + b$

$$\text{MDA} \text{ (nmol/g)} = (\Delta A_{532} - b) \div a \times f \div \frac{m}{V}$$

**注解：**

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值

x: 标准品的浓度

$\Delta A_{532}$ : 样本 OD 值-空白 OD 值

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

f: 样本加入检测体系之前的稀释倍数

m: 植物组织样本重量 (g)

V: 样本处理过程中加入试剂五抽提应用液的体积 (mL)

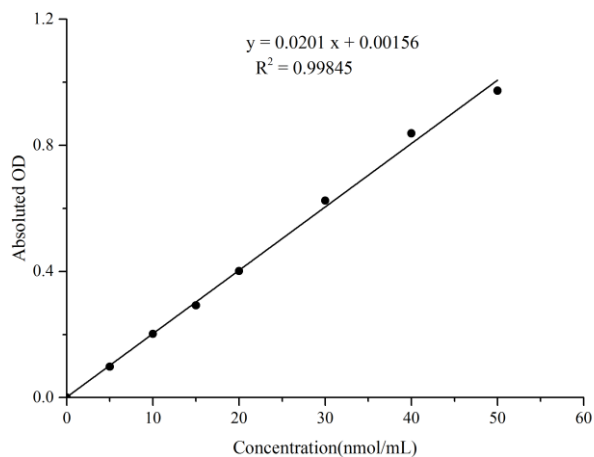
## 附录1 关键数据

### 1. 技术参数

|       |                 |       |      |
|-------|-----------------|-------|------|
| 检测范围  | 0.17-50 nmol/mL | 平均批间差 | 6.4% |
| 灵敏度   | 0.17 nmol/mL    | 平均批内差 | 4.6% |
| 平均回收率 | 100%            |       |      |

### 2. 标准曲线(数据仅供参考)

标准曲线(数据仅供参考):



## 附录2 实例分析

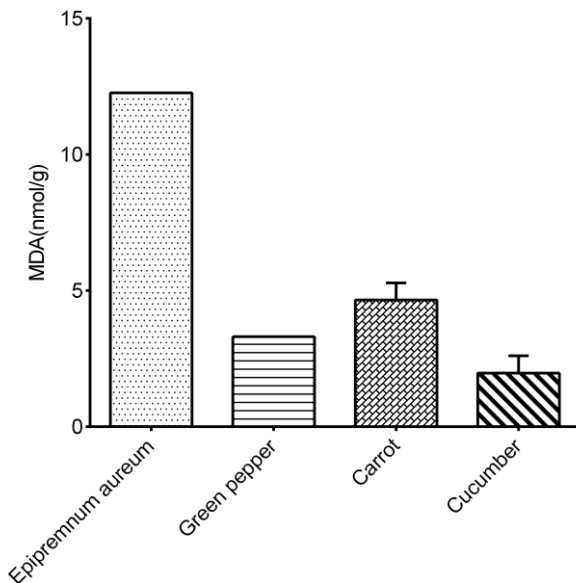
例如检测胡萝卜(数据仅供参考):

取0.1 g的胡萝卜, 剪碎后加入0.9 mL的试剂五应用提取液, 冰水浴条件下匀浆, 60 Hz, 每次90 s, 共5次, 匀浆后, 1000×g离心15 min, 取上清100 μL, 按操作表操作, 结果如下:

标准曲线:  $y = 0.0201x + 0.00156$ , 空白孔平均OD值为0.040, 测定孔平均OD值为0.052, 计算结果为:

$$\text{MDA (nmol/g)} = (0.052 - 0.040 - 0.00156) \div 0.0201 \times 1 \div \frac{0.1}{0.9} = 4.67 \text{ nmol/g}$$

按说明书操作, 测定绿萝叶、青椒、胡萝卜、黄瓜(加样量均为100 μL)中的MDA含量(如下图):



### 附录3 问题答疑

| 问题                 | 可能原因          | 建议解决方案           |
|--------------------|---------------|------------------|
| 复孔差异大              | 未严格按照说明书操作    | 严格按照说明书操作        |
| 样本和标准品显色很低         | 水浴时间太短        | 保证充足的水浴时间        |
|                    | 水浴温度较低        | 严格控制水浴温度 95-100℃ |
| 样本测不出值             | 样本稀释倍数太大      | 选择合适的稀释倍数,重新检测   |
|                    | 样本含量太低,低于灵敏度  | 增加取样量或者浓缩样本      |
|                    | 样本保存时间过长或保存不当 | 取新鲜样本,重新检测       |
| 样本测量结果 >50 nmol/mL | 样本浓度太高        | 适当稀释样本,重新检测      |
| 读数数值低              | 用不恰当波长检测      | 选择正确的检测波长        |

### 声明

1. 试剂盒仅供研究使用,如将其用于临床诊断或任何其他用途,我公司将不对因此产生的问题负责,亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器,严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低,请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中,建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责,不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责,使用前请充分考虑样本可能的使用量,预留充足的样本。

## 附录4 客户发表文献

1. Du S, Zhou N, Xie G, et al. Surface-engineered triboelectric nanogenerator patches with drug loading and electrical stimulation capabilities: Toward promoting infected wounds healing[J]. *Nano Energy*, 2021, 85:106004. IF:17.087
2. Bartolini D, Arato I, Mancuso F, et al. Melatonin modulates Nrf2 activity to protect porcine pre-pubertal Sertoli cells from the abnormal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and reductive stress effects of cadmium. *J Pineal Res.* 2022;73 (1):e12806. IF:13.007
3. Yang Z, Wang J, Ai S, et al. Self-generating oxygen enhanced mitochondrion-targeted photodynamic therapy for tumor treatment with hypoxia scavenging[J]. *Theranostics*, 2019, 9(23): 6809. IF:11.556
4. Wan Q, Cao R, Wen G, et al. Sequential use of UV-LEDs irradiation and chlorine to disinfect waterborne fungal spores: Efficiency, mechanism and photoreactivation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423:127102-. IF:10.588
5. Tian J, Wang L, Hui S, et al. Cadmium accumulation regulated by a rice heavy-metal importer is harmful for host plant and leaf bacteria. *J Adv Res.* 2022. IF:10.479
6. Jg A, Jie S B, Jy B, et al. Comparative toxicity reduction potential of UV/sodium percarbonate and UV/hydrogen peroxide treatments for bisphenol A in water: An integrated analysis using chemical, computational, biological, and metabolomic approaches[J]. *Water Research*, 2020, 190. IF:9.702
7. Yang X X, Xu X, Wang M F, et al. A nanoreactor boosts chemodynamic therapy and ferroptosis for synergistic cancer therapy using molecular amplifier dihydroartemisinin[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2022, 20(1):1-19. IF:9.464
8. Liu Z, Liu X, Yang Q, et al. Neutrophil membrane-enveloped nanoparticles for the amelioration of renal ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Acta Biomaterialia*, 2020, 104: 158-166. IF:8.947
9. Huang S, Le H, Hong G, et al. An all-in-one biomimetic iron-small interfering RNA nanoplatform induces ferroptosis for cancer therapy. *Acta Biomater.* 2022;148:244-257. IF:8.291
10. Alharbi YM, Sakr SS, Albarrak SM, et al. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11 (4):. IF:7.675

11. Wang H, Huang Q, Zhang Z, et al. Transient post-operative overexpression of CXCR2 on monocytes of traumatic brain injury patients drives monocyte chemotaxis toward cerebrospinal fluid and enhances monocyte-mediated immunogenic cell death of neurons in vitro[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2022. **IF:7.573**
12. Liu P, Yin Z, Chen M, et al. Cytotoxicity of adducts formed between quercetin and methylglyoxal in PC-12 cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 352(2):129424. **IF:7.514**
13. Adhikari B, Adhikari M, Ghimire B, et al. Cold plasma seed priming modulates growth, redox homeostasis and stress response by inducing reactive species in tomato (*Solanum lycopersicum*)[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, 156: 57-69. **IF:7.376**
14. Zhao X, Wang C,Dai S, et al. Quercetin Protects Ethanol-Induced Hepatocyte Pyroptosis via Scavenging Mitochondrial ROS and Promoting PGC-1  $\alpha$  -Regulated Mitochondrial Homeostasis in L02 Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022:4591134. **IF:7.31**
15. Chagas TQ, Freitas Í, Montalvão MF, Nobrega RH, Machado MRF, Charlie-Silva I, Araújo APDC, Guimarães ATB, Alvarez TGDS, Malafaia G. Multiple endpoints of polylactic acid biomicroplastic toxicity in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Chemosphere*. 2021 Aug;277:130279. **IF:7.086**
16. Mlindeli Gamede, Lindokuhle Mabuza, Phikelelani Ngubane, et al. Preventing the onset of diabetes-induced chronic kidney disease during prediabetes: The effects of oleanolic acid on selected markers of chronic kidney disease in a diet-induced prediabetic rat model[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*.2021 Jul;139:111570. **IF:6.529**
17. Yang H, Zhu Y, Ye Y, et al. Nitric oxide protects against cochlear hair cell damage and noise-induced hearing loss through glucose metabolic reprogramming.[J]. *Free radical biology & medicine*, 2021. **IF:6.525**
18. Rao M J, Xu Y, Tang X, et al. CsCYT75B1, a Citrus CYTOCHROME P450 Gene, Is Involved in Accumulation of Antioxidant Flavonoids and Induces Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2020, 9(2):161. **IF:6.313**
19. Liou G G, Hsieh C C, Lee Y J, et al. N-Acetyl Cysteine Overdose Inducing Hepatic Steatosis and Systemic Inflammation in Both Propacetamol-Induced Hepatotoxic and Normal Mice[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):442. **IF:6.312**
20. Wang Y, Chi H, Xu F, et al. Cadmium chloride-induced apoptosis of HK-2 cells via interfering with mitochondrial respiratory chain[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 236:113494-. **IF:6.233**
21. Obaid QA, Al-Shammari AM, Khudair KK. Glucose Deprivation Induced by Acarbose

- and Oncolytic Newcastle Disease Virus Promote Metabolic Oxidative Stress and Cell Death in a Breast Cancer Model. *Front Mol Biosci.* 2022;9:816510. **IF:6.113**
22. Abdel-Wahab BA, Walbi IA, Albarqi HA, Ali FEM, Hassanein EHM. Roflumilast protects from cisplatin-induced testicular toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. Role of NF- $\kappa$ B-p65, cAMP/PKA and Nrf2/HO-1, NQO1 signaling[J]. *Food Chem Toxicol.* 2021 May;151:112133. **IF:6.023**
  23. Aljutaily T. Evaluating the Nutritional and Immune Potentiating Characteristics of Unfermented and Fermented Turmeric Camel Milk in Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression in Rats. *Antioxidants (Basel).* 2022;11 (4):. **IF:5.952**
  24. Jabbari N, Nawaz M, Rezaie J. Ionizing Radiation Increases the Activity of Exosomal Secretory Pathway in MCF-7 Human Breast Cancer Cells: A Possible Way to Communicate Resistance against Radiotherapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(15):3649-. **IF:5.923**
  25. Shanmugarajan D, Girish C, Harivenkatesh N, et al. Antihypertensive and pleiotropic effects of *Phyllanthus emblica* extract as an add-on therapy in patients with essential hypertension—A randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. *Phytotherapy Research*, 2021. **IF:5.878**
  26. Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study)[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2018. **IF:5.688**
  27. Peng J, Pan J, Mo J, et al. MPO/HOCl Facilitates Apoptosis and Ferroptosis in the SOD1 G93A Motor Neuron of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022:8217663. **IF:5.604**
  28. Treadmill Exercise Alleviates Brain Iron Dyshomeostasis Accelerating Neuronal Amyloid- $\beta$  Production, Neuronal Cell Death, and Cognitive Impairment in Transgenic Mice Model of Alzheimer's Disease[J]. *Molecular neurobiology*, 2021, 58(7):3208-3223. **IF:5.59**
  29. Aboulhoda, B. E., Rashed, L. A., Ahmed, H., et al. Hydrogen sulfide and mesenchymal stem cells-extracted microvesicles attenuate LPS-induced Alzheimer's disease[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2021, 236(8):5994-6010 **IF:5.546**
  30. Liu W, Jia H, Guan M, et al. Discovery of novel tubulin inhibitors targeting the colchicine binding site via virtual screening, structural optimization and antitumor evaluation. *Bioorg Chem.* 2022;118:105486. **IF:5.508**