

植物丙二醛（MDA）含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHA2-M48	丙二醛（MDA）含量测定试剂盒	48T	微量法
PYHA2-M96		96T	

一、测定意义：

MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一，它的产生还能加剧膜的损伤因此在植物衰老生理和抗性生理研究中 MDA 含量是一个常用指标，可通过 MDA 了解膜脂质过氧化程度，以间接测定膜系统受损程度以及植物的抗逆性。

二、测定原理：

在酸性和高温条件下，MDA 可以与硫代巴比妥酸(TBA)反应生成红棕色的产物，其最大吸收波长在 532nm。且植物组织中蔗糖与 TBA 显色反应产物的最大吸收波长在 450nm，但 532nm 处也有吸收。测定时需去除这部分干扰。从而准确计算出样本中丙二醛的含量。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量（48T）	试剂装量（96T）	保存条件
提取液	液体 60mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 25mL×1 瓶	液体 50mL×1 瓶	室温保存
丙二醛标准品 (1mmol/L)	液体 1.5mL×1 瓶	液体 1.5mL×1 瓶	4℃ 保存
蔗糖标准品 (250mmol/L)	液体 1.5mL×1 支	液体 1.5mL×1 支	4℃ 保存

四、操作步骤：

样本前处理

植物组织提取液的制备：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例（建议称重 0.1g，加入提取液 1mL），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃ 离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

1、测定前将试剂恢复至常温。

2、操作表：

MDA 标准品的稀释：取适量标准品用蒸馏水稀释至 1、2、5、10、20、50 μ mol/L，制作标准曲线。

蔗糖标准品的稀释：取适量标准品用蒸馏水稀释至 0、2.5、6.25、12.5、25、62.5、125mmol/L，制作标准曲线。

	空白管	标准管 1	标准管 2	样本管
双蒸水 (mL)	0.1	-	-	-
丙二醛标准 (mL)	-	0.1	-	-
蔗糖标准品 (mL)	-	-	0.1	-
样本 (mL)	-	-	-	0.1
试剂一 (mL)	0.3	0.3	0.3	0.3

按照操作表将样本和试剂加入带盖的离心管中，混匀，于沸水浴上反应 20min，迅速冷却后，4000rpm/min 常温离心 10 分钟。取上清液 200 μ L 于 96 孔板中，测定 450、532、600nm 波长下的吸光度值。

五、植物样本中丙二醛含量计算：

蔗糖标准曲线：以不同浓度的蔗糖标准品测定的 A450 值为横坐标，A532 值为纵坐标，拟合其直线方程，从而算出糖分在 532 处的吸光度值 Y532。Y532 = 0.0614x - 0.0016, R² = 0.9983。

提取液中丙二醛计算：以 A532 吸光度值为横坐标，丙二醛浓度为纵坐标，拟合其直线方程。将样本测定的 (A532-A600-Y532) 值带入标曲，从而算出提取液中的 MDA 含量。其中 A600 代表样本的非特异性吸收。y = 43.019x - 0.212, R² = 0.9998 ; y 单位为 μ mol/L。

植物 MDA 的含量： MDA 含量(nmol/g)=MDA 浓度 \times V_{提取} \div W

V 提取：0.1mL

W：样本鲜重，0.1g

1 μ mol/L： 1 nmol/mL

六、注意事项：

- 1、部分植物组织中 MDA 含量较低，需要加大样本取样浓度。
- 2、沸水浴时候，注意离心管的盖子一定需要盖紧。最好是使用带旋盖的管子。
- 3、试剂一会有沉淀析出，可以沸水浴加入，使其完全溶解。

附录 I 丙二醛-TBA 标准曲线制备

1、取适量丙二醛标准品 1mmol/L 用蒸馏水稀释 0、1、2.5、5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ ，按照操作表操作。

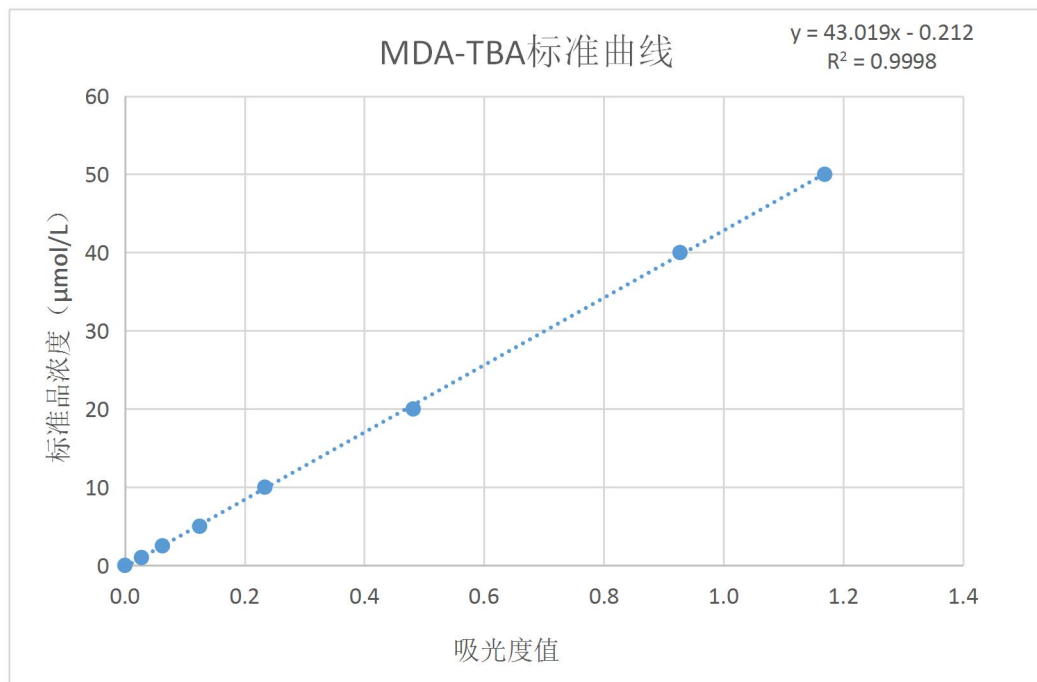
	空白管	标准管
双蒸水 (mL)	0.1	
丙二醛标准品 (mL)		0.1
试剂一 (mL)	0.3	0.3

按照操作表将样本和试剂加入带盖的离心管中，混匀，于沸水浴上反应 20min，迅速冷却后，4000rpm/min 常温离心 10 分钟。空白管调零，取上清液测定 450、532、600 波长下的吸光度值。

2、测定结果

丙二醛浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	0.0	1.0	2.5	5.0	10.0	20.0	40.0
A532	0.0041	0.0318	0.0668	0.1290	0.2379	0.4857	0.9313
绝对 A532	0.0000	0.0277	0.0627	0.1249	0.2338	0.4816	0.9272

以绝对 A532 值为横坐标，丙二醛浓度为纵坐标，制备直线回归方程。



附录 II 蔗糖-TBA 标准曲线制备

1、取适量蔗糖标准品 250mmol/L 用蒸馏水稀释至 0、2.5、6.25、12.5、25、62.5、125mmol/L，按照操作表操作。

	空白管	标准管
双蒸水 (mL)	0.3	-
蔗糖标准品 (mL)	-	0.3
试剂一 (mL)	1.0	1.0

按照操作表将样本和试剂加入带盖的离心管中，混匀，于沸水浴上反应 20min，迅速冷却后，4000rpm/min 常温离心 10 分钟。空白管调零，取上清液测定 450、532、600 波长下的吸光度值。

2、测定结果

蔗糖浓度 (mmol/L)	0	2.5	6.25	12.5	25	62.5	125
A450	0.0000	0.0238	0.0623	0.1190	0.2363	0.5768	1.1865
A532	0.0000	0.0002	0.0016	0.0061	0.0116	0.0327	0.0721

以 A450 值为横坐标，A532 值为纵坐标，制备直线回归方程。

