



辅酶 Q₁₀(CoQ₁₀)检测试剂盒(比色法)

简介:

辅酶 Q(Coenzyme Q, CoQ)是一种生物体内广泛存在的脂溶性醌类化合物,故又称泛醌,在体内呼吸链中质子移位及电子传递中起重要作用,是呼吸链中重要的递氢体,它是细胞呼吸和细胞代谢的激活剂,也是重要的抗氧化剂和非特异性免疫增强剂。对多种酶有激活作用。不同生物体来源的辅酶 Q 其侧链异戊烯单位的数目不同,人类和哺乳动物是 10 个异戊烯单位,故称辅酶 Q₁₀。辅酶 Q₁₀是辅酶 Q 类的重要成员之一,它们与线粒体内膜相结合,广泛参与体内的生物代谢过程。

辅酶 Q₁₀ 不仅能给心脏提供动力,还具有卓越的抗氧化、清除自由基功能,能预防血管壁脂质过氧化,预防动脉粥样硬化,并且无任何毒副作用。具体作用体现在以下四个方面:

①帮助保护心脏 辅酶 Q₁₀ 有助于为心肌提供充足氧气,预防突发性心脏病,尤其在心肌缺氧过程中辅酶 Q₁₀ 发挥关键性改善作用。

②保护皮肤 长期使用辅酶 Q₁₀ 能够有效防止皮肤衰老,减少脸部皱纹。

③抗疲劳 辅酶 Q₁₀ 使细胞保持良好健康的状态,因而机体充满活力,精力旺盛,脑力充沛。它是细胞自身产生的天然抗氧化剂和细胞代谢启动剂,具有保护和恢复生物膜结构的完整性、稳定膜电位作用,是机体的非特异性免疫增强剂,因此显示出极好抗疲劳作用。

④防癌抗癌 研究表明,辅酶 Q₁₀ 有抗肿瘤作用,临床对于晚期转移性癌症有一定疗效。

源叶生物 辅酶 Q₁₀(CoQ₁₀)检测试剂盒(比色法)其检测原理是待测样品在碱性条件下,EC 取代了 CoQ₁₀ 上的甲氧基,形成蓝色化合物,通过分光光度计或酶标仪测定 620nm 处吸光度值,根据标准曲线即可测出辅酶 Q₁₀ 的含量。本产品可用于测定花生、牛肉、沙丁鱼、保健品等食品中的 CoQ₁₀ 的含量。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

组成:

名称 \ 编号	R22055 50T	Storage
试剂(A): CoQ ₁₀ 标准(5mg/ml)	0.5ml	-20℃ 避光
试剂(B): EC solution	25ml	RT 避光
试剂(C): EC buffer	100ml	RT
试剂(D): CoQ ₁₀ Assay buffer	25ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、无水乙醇、蒸馏水、三氯甲烷或正己烷等提取试剂
- 2、分光光度计或酶标仪、比色杯或 96 孔板

操作步骤(仅供参考):

- 1、稀释标准品: 用 EC buffer 稀释 CoQ₁₀ 标准(5mg/ml)至 0.5mg/ml, -20℃ 保存备用。
- 2、准备样品:
 - ①新鲜动物心脏或肝脏样品: 用醇碱皂化法、溶剂皂化法等提取(方法见附二)。
 - ②动物血清样品: 0.1ml 血清加入 0.9ml 三氯甲烷, 持续摇动 30min 以上, 使 CoQ₁₀ 充分提取出来。如果检测结果较低, 可以降低三氯甲烷的加入量。
 - ③细胞样品: 取一定数量的细胞加入生理盐水或 PBS, 用匀浆器匀浆或超声破碎处理, 高速离心, 留取上清。后续参考血清样品操作。
 - ④保健食品: 参考 GB/T 22252-2008 《保健食品中辅酶 Q₁₀ 的测定》中样本的提取方法。具体如下: 根据试样中 CoQ₁₀ 含量, 称取 1~5g 均匀试样(精确至 0.001g), 置于 25ml 棕色容量瓶中, 加正己烷 20ml, 超声提取 20min 后, 加正己烷至刻度, 摇匀, 量取 1.0ml 上述溶液于 10ml 棕色容量瓶中, 用无水乙醇稀



释至刻度，混匀，0.45 μ m 滤膜过滤，滤液备用。

⑤酵母菌等发酵菌体样品：用醇碱皂化法提取，提取方法参考如下：

将湿菌体移入 150ml 圆底烧瓶，加入 0.7g 焦性没食子酸、2.5g 氢氧化钾、19ml 甲醇和 7ml 蒸馏水，混匀。90℃水浴锅中回流 30min，迅速冷却至室温，倒入分液漏斗中，加入石油醚(正己烷、三氯甲烷或丙酮)等有机溶剂 40ml，剧烈震荡 5min，萃取 CoQ₁₀，连续萃取 2 次，合并萃取液，用蒸馏水洗涤至中性，加入 5g 无水硫酸钠干燥。用旋转蒸发仪 50℃浓缩至浓稠液，加入 10ml 无水乙醇，放入冰箱冷冻析出胆固醇等杂质，过滤，滤液定容至 100ml 待用。

3、CoQ₁₀加样：按照下表设置空白、标准和测定，溶液应按顺序依次加入，并注意避免产生气泡。如果样品中的 CoQ₁₀浓度过高，可减少样品用量或用 EC buffer 稀释后再进行测定。

普通分光光度计(2ml 比色杯) CoQ ₁₀ 测定			
加入物(ml)	空白管	标准管	测定管
EC buffer	2	1.75	1.75
CoQ ₁₀ 标准(0.5mg/ml)	—	0.25	—
待测样品(提取液)	—	—	0.25
EC solution	0.5	0.5	0.5
CoQ ₁₀ Assay buffer	0.5	0.5	0.5

酶标仪 CoQ ₁₀ 测定			
加入物(μ l)	空白孔	标准孔	待测孔
EC buffer	200	175	175
CoQ ₁₀ 标准(0.5mg/ml)	—	25	—
待测样品(提取液)	—	—	25
EC solution	50	50	50
CoQ ₁₀ Assay buffer	50	50	50

4、CoQ₁₀测定：混匀，室温避光孵育 3~5min，以空白管调零，比色杯光径 1cm，分光光度计或酶标仪 620nm(600~640nm 亦可)处测定标准管或测定管的吸光度。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

计算:

液体样品辅酶 Q₁₀ 浓度: $\text{CoQ}_{10}(\text{mg/ml}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 0.5$

液体样品辅酶 Q₁₀ 含量: $\text{CoQ}_{10}(\text{mg}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 0.5 \times V_T$

每 100g 固体样品辅酶 Q₁₀ 含量: $\text{CoQ}_{10}(\text{mg}) = A_{\text{测定}} / A_{\text{标准}} \times 0.5 \times V_T \times 100/m$

式中: $A_{\text{测定}}$ = 测定管的吸光度

$A_{\text{标准}}$ = 标准管的吸光度

0.5 = CoQ₁₀ 标准的浓度(mg/ml)

V_T = CoQ₁₀ 提取液的总体积(ml)

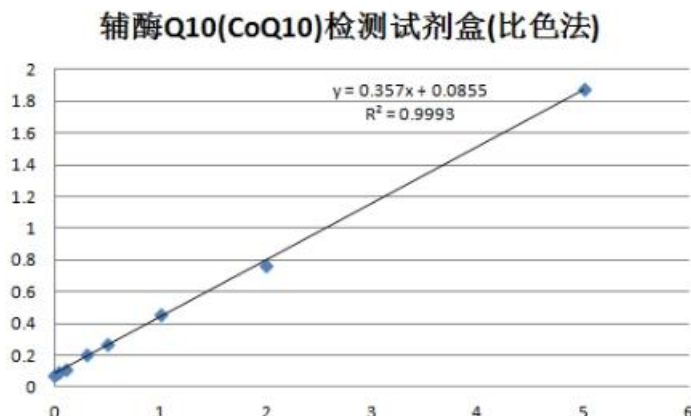
m = 样品的实际用量(g)

注意事项:

- 1、待测样品中不能含有 CoQ₁₀ 抑制剂, 同时需避免反复冻融。
- 2、在皂化过程中, 震荡不要剧烈, 以免形成乳化层。
- 3、CoQ₁₀ Assay buffer 如果出现浑浊或絮状物, 应弃用。
- 4、CoQ₁₀ 标准梯度应准确, 尽量减少不必要的误差。
- 5、EC solution 有一定毒性, 请小心操作。
- 6、检测标准品时, 按步骤 3 表格混合后, 2min 内即出现明显的蓝色变化并逐渐加深, 20min 后蓝色开始变浅, 30min 后逐渐呈黄绿色。630nm 检测数据表明, 随着时间的延长, OD 值在不断的下降, 对应的颜色也已发生变化, 特别是高浓度的标准品变化比较大。因此, 应在出现最深的蓝色结果且稳定的时间段内尽快检测, 而且建议每次同时检测标准品(0.3~0.5mg/ml)和样品。如有条件, 最好用酶标仪检测, 减少因检测时间导致的误差。
- 7、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效。

附一: 参考标准曲线范围: 测定 CoQ₁₀ 标准 0.04、0.1、0.3、0.5、1、2、5mg/ml 在 630nm 的吸光度, 据此做出其标准曲线如下:



附二: CoQ₁₀ 的提取方法 (来源于网络, 仅供参考)

方法一、醇碱皂化法

皂化液的制备 取猪心残渣, 压干称重, 按干渣重加 300g/L 工业焦性没食子酸, 搅匀, 加醇-碱溶液(干渣重 3~3.5 倍量乙醇、320g/L 氢氧化钠), 加热搅拌回流 25~30min, 迅速冷却至室温, 得皂化液。

浓缩液的制备 取皂化液, 立即加入其体积 1/10 量的石油醚或 120 号汽油提取 3~4 次, 搅拌, 分层, 得提取液。水洗至近中性, 在 40℃以下浓缩至原体积的 1/10, 冷却, -5℃以下静置过夜, 过滤, 得浓缩液。

辅酶 Q₁₀ 精制品的制备 将浓缩液过硅胶柱层析, 先后用石油醚、10%乙醚-石油醚洗脱, 收集洗脱液, 回收溶剂, 得黄色油状物。加热无水乙醇溶解, 过滤, 滤液静置, 冷却结晶, 真空干燥, 得辅酶 Q₁₀ 精制品。

方法二、醇醚混合溶剂提取法

辅酶 Q₁₀ 粗制品的制备 取猪心残渣, 加 1.5 倍量的 V 乙醇: V 乙醚=3: 1 混合溶剂, 加热提取 3~4 次, 每次 15~20min, 冷至室温, 过滤, 合并提取液。浓缩, 加适量水, 加石油醚提取, 提取液浓缩, 浓缩物为黄色油状物, 即辅酶 Q₁₀ 粗制品。

辅酶 Q₁₀ 成品的制备 取辅酶 Q₁₀ 粗制品, 加丙酮溶解, 置-10℃以下析出杂质, 过滤, 滤液蒸去丙酮, 加少量石油醚溶解, 过硅胶柱层析分离, 加无水乙醇结晶, 得辅酶 Q₁₀ 成品。