

草酸含量检测试剂盒说明书

微量法

规格:100T/96S

产品组成：使用前请认真核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系工作人员。

| 试剂名称 | 规格 | 保存条件 |
|------|---------------|------|
| 试剂一 | 粉剂×1 瓶 | 4℃保存 |
| 试剂二 | 液体 20 mL×1 瓶 | 4℃保存 |
| 试剂三 | 液体 1.5 mL×1 支 | 4℃保存 |
| 试剂四 | 粉剂×1 瓶 | 4℃保存 |
| 标准品 | 粉剂×1 支 | 4℃保存 |

溶液的配制：

- 1、试剂一：临用前加入 3mL 蒸馏水溶解后待用；
- 2、标准品：临用前加入 792 μ L 蒸馏水配制成 100 μ mol/mL 草酸标准溶液；

产品说明：

草酸是一种二元羧酸，广泛存在于植物界中，且在不同领域有着不同的作用：在医药、印染、塑料等工业生产中，草酸可用作制药原料、络合剂、漂白剂、沉淀剂以及还原剂等；从食品角度看，长期食用草酸含量高的蔬菜，容易引发关节炎、低血钙、膀胱结石和肾结石等疾病，而被认为是矿物元素的拮抗物。

Fe^{3+} 在 pH 为 2 的条件下可以与磺基水杨酸生成紫色络合物，在 510 nm 处有特征吸收峰。草酸及草酸根可以使 Fe^{3+} 与磺基水杨酸的紫色络合物颜色变浅，且 Fe^{3+} 与磺基水杨酸络合物的吸光度随着草酸量的增加而降低，据此可由降低的吸光值计算出样本中草酸的含量。

技术指标：

- 最低检出限：0.1601 μ mol/mL
线性范围：0.1875-18 μ mol/mL

注意：实验之前建议选择 2-3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、微量玻璃比色皿/96孔板、可调式移液枪、研钵/匀浆器、冰和蒸馏水、EP管。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

组织 按照质量（g）:蒸馏水体积（mL）为 1:5~10 的比例（建议称取约 0.1 g，加入 1 mL 蒸馏水）充分匀浆，然后加入少许试剂四（约 3-5mg），震荡混匀后置于 75℃水浴锅脱色 30 min，期间摇晃 2-3 次，脱色后常温 3000r/min 离心 15 min，取上清置于冰上待测（若组织沉淀与试剂四不能一次性离心去除时，建议将上清多离心几次；若一

次脱色不完全时，建议重复脱色至溶液呈无色或略呈乳白色）。

二、测定步骤

- 1、分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 510 nm，蒸馏水调零。
- 2、将 100 $\mu\text{mol/mL}$ 的草酸标准液用蒸馏水稀释为 18、15、12、6、3、1.5、0.75、0.375 $\mu\text{mol/mL}$ 的标准溶液备用。
- 3、操作表 (在 1.5 mL 离心管/96 孔板中操作)：

| 试剂名称 (μL) | 空白管 | 测定管 | 标准管 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 试剂一 | 20 | 20 | 20 |
| 试剂二 | 150 | 150 | 150 |
| 试剂三 | 10 | 10 | 10 |
| 蒸馏水 | 20 | - | - |
| 样本 | - | 20 | - |
| 标准溶液 | - | - | 20 |
| 混匀，室温静置 20 min | | | |
| 于微量玻璃比色皿/96 孔板测定 510 nm 处吸光值 A，分别记为 A 空白管、A 测定管、A 标准管。计算 $\Delta A = A \text{ 空白管} - A \text{ 测定管}$ ， $\Delta A \text{ 标准} = A \text{ 空白管} - A \text{ 标准管}$ 。同一批检测样本需测 1-2 个空白管（标准管只需检测 1-2 次）。 | | | |

注意：如果检测样本量大，可以根据样本所需按照试剂一:试剂二:试剂三=2:15:1 (v:v:v) 的比例配制成工作液现配现用，加样体系为 180 μL 工作液，20 μL 样本（蒸馏水或标准溶液）。

三、草酸含量计算

- 1、标准曲线的绘制：

以各个标准溶液的浓度为 x 轴，其对应的 ΔA 标准为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程 $y = kx + b$ ，将 ΔA 带入方程得到 x ($\mu\text{mol/mL}$)。

- 2、草酸含量的计算：

$$\text{草酸含量 (mg/g 质量)} = x \times V \text{ 提取} \times M \times 10^{-3} \div W = 0.09x \div W$$

V 提取：加入的蒸馏水体积，1mL；W：样本质量，g；M：草酸分子质量 90.04； 10^{-3} ：单位换算系数，1 $\mu\text{g} = 10^{-3} \text{ mg}$ 。

注意事项：

1. 如果测定吸光值超过线性范围吸光值，可以增加样本量或者稀释样本后再进行测定。
2. 如将试剂一、试剂二与试剂三配成工作液使用时，按照配制比例根据样本量所需现配现用，不得一次性配完待用。