



## 草酸含量检测试剂盒(微量法)

中文名称：**草酸含量检测试剂盒**

英文名称：Oxalic acid Content Assay Kit

产品包装：盒装

产品规格：100T/96S

储存条件：2-8℃

检测方法：微量法

有效期：6个月

### 产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	粉剂×1 瓶	4℃保存
试剂一	液体 20mL×1 瓶	4℃保存
试剂二	液体 1.5mL×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 $\mu$ L 蒸馏水配制成 100  $\mu$ 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。 $\text{Fe}^{3+}$ 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  $\text{Fe}^{3+}$ 与磺基水杨酸的紫色络合物颜色变浅,且  $\text{Fe}^{3+}$ 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  $\mu\text{mol/mL}$

线性范围: 0.1875-18  $\mu\text{mol/mL}$

**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)

**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°C 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 510nm, 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 μmol/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  $\Delta A$  标准为 y 轴, 绘制标准曲线, 得到标准方程  $y = kx + b$ , 将  $\Delta A$  带入方程得到 x (μmol/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。