

草酸（OA）含量测定试剂盒说明书

(货号: G0894F 分光法 48 样)

一、产品简介:

草酸是植物体内普遍存在的一种二元羧酸,从环境毒理学和食品营养学角度看,草酸在蔬菜作物可食部位的大量累积会影响到人类的身体健康,长期食用草酸含量高的蔬菜,容易引发关节炎、低血钙和肾结石等疾病。

Fe^{3+} 在酸性条件下能够与磺基水杨酸反应生成紫色络合物,该紫色络合物在 510 nm 处具有特征吸收峰,草酸和草酸根能够使该紫色络合物颜色变浅, Fe^{3+} 与磺基水杨酸络合物的吸光值随着草酸量的增加而降低,通过检测吸光值变化即可检测草酸含量。

二、试剂盒的组成和配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	粉体 mg×2 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部,每支再加 1.8mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 55mL×1 瓶	4℃保存	
试剂三	液体 3mL×1 支	4℃保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4℃保存	若重新做标曲,则用到该试剂。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)、台式离心机、可调式移液器、研钵、水浴锅/金属浴、冰、蒸馏水。

四、草酸(OA)含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定,了解本批样品情况,熟悉实验流程,避免实验样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- ① 组织样本:称取约 0.1g 组织(水分充足样本可取 0.5g),加入 1mL 提取液,进行冰浴匀浆,于 85℃水浴 5-10min,取出后冷却至室温后于 12000rpm,室温离心 10min,取上清液待测。

【注】:若增加样本量,可按照组织质量(g):提取液体积(mL)为 5~10:1 的比例进行提取。

- ② 液体样本:液体样本直接检测,若浑浊则 12000rpm,室温离心 10min,取上清液待测。

2、上机检测:

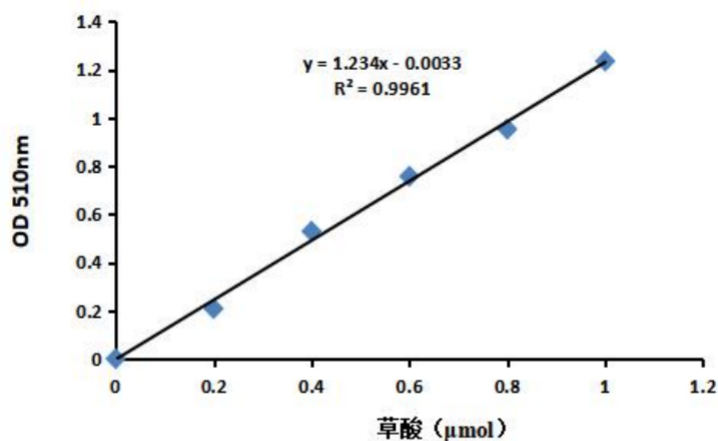
- ① 可见分光光度计调节波长至 510nm,蒸馏水调零。
- ② 在 EP 管中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	对照管	空白管 (仅做一次)
样本	100	100	
蒸馏水		100	100
试剂一	50		50
试剂二	500	500	500
试剂三	50		50
混匀,室温反应 20min,全部澄清的液体转移至 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm)中,于 510nm 读值, $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ (每个样本做一个自身对照)。			

- 【注】1.若 ΔA 小于 0.01, 可以于样本制备时增加样本质量 W, 或增加样本加样体积 V1 (如由 100 μ L 增至 200 μ L, 则试剂二相应减少), 则改变后的 W 和 V1 需代入计算公式重新计算。
2.若 ΔA 大于 1, 可对样本用蒸馏水稀释后测定, 则稀释倍数 D 带入计算公式重新计算。

五、计算公式:

- 1、标准曲线方程: $y = 1.234x - 0.0033$; x 为标准品摩尔质量 (μ mol), y 为 ΔA 。



- 2、按照样品质量计算:

$$\text{草酸含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.0033) \div 1.234] \times Mr \div (W \times V1 \div V) \times D \\ = 729.6 \times (\Delta A + 0.0033) \div W \times D$$

- 3、按照液体体积计算:

$$\text{草酸含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0033) \div 1.234] \times Mr \div V1 \times D = 729.6 \times (\Delta A + 0.0033) \times D$$

V1---反应中样品体积, 0.1mL;

V---加入提取液体积, 1mL;

Mr---草酸分子量, 90.03;

W---样品质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 制备标准品母液 (50 μ mol/mL): 标准品管甩几下使粉体落入底部, 再加入 1.5mL 蒸馏水混匀溶解即 50 μ mol/mL 的标准品 (-20 $^{\circ}$ C 保存)。
- 2 把母液用蒸馏水稀释成六个浓度梯度的标准品: 0, 2, 4, 6, 8, 10. μ mol/mL。
- 3 依据测定管的加样表操作, 根据结果 ($\Delta A = A$ 空白 - A 标准) 即可制作标准曲线。