

草酸（OA）含量测定试剂盒说明书

(货号：G0894W96 微板法 96 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 120mL×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 1.5mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	液体 28mL×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：

酶标仪、96 孔板、台式离心机、可调式移液器、水浴锅/金属浴、研钵、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 酶标仪调节波长至 510nm。
- ② 在 96 孔板中依次加入：

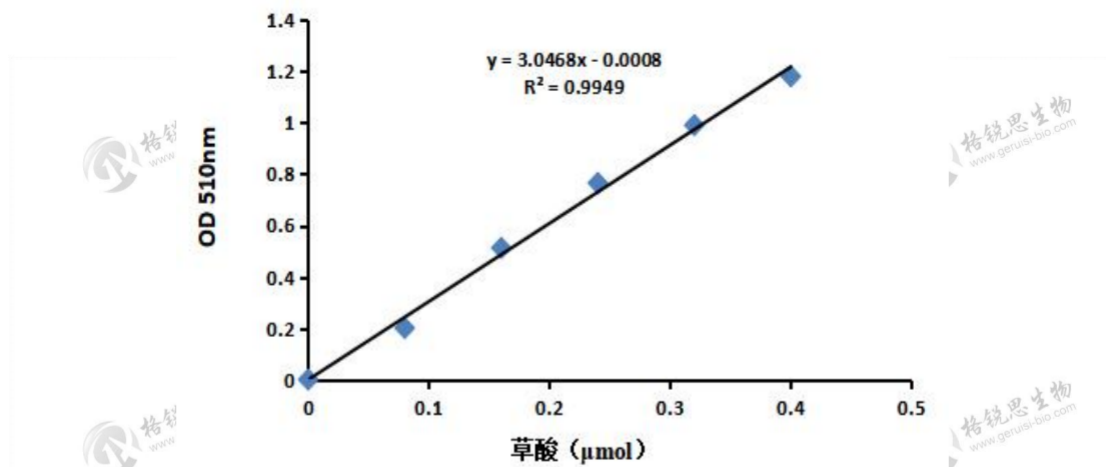
试剂名称（ μL ）	测定管	对照管	空白管 （仅做一次）
样本	40	40	
蒸馏水		40	40
试剂一	20		20
试剂二	130	130	130
试剂三	20		20
混匀，室温反应 20min，于 510nm 读值， $\Delta A = A_{\text{空白}} - (A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}})$ （每个样本做一个自身对照）。			

【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 40 μL 增至 80 μL ，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： $y = 3.0468x - 0.0008$ ； x 为标准品摩尔质量（ μmol ）， y 为 ΔA 。



2、按照样品质量计算：

$$\begin{aligned} \text{草酸含量}(\mu\text{g/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0008) \div 3.0468] \times Mr \div (W \times V1 \div V) \times D \\ &= 738.7 \times (\Delta A + 0.0008) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按照液体体积计算：

$$\text{草酸含量}(\mu\text{g/mL}) = [(\Delta A + 0.0008) \div 3.0468] \times Mr \div V1 \times D = 738.7 \times (\Delta A + 0.0008) \times D$$

V1---反应中样品体积，0.04mL；

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（ $50\mu\text{mol/mL}$ ）：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 $50\mu\text{mol/mL}$ 的标准品（ -20°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. $\mu\text{mol/mL}$ 。
- 3 依据测定管的加样表操作，根据结果（ $\Delta A = A_{\text{空白}} - A_{\text{标准}}$ ）即可制作标准曲线。