

草酸含量检测试剂盒说明书

可见分光光度法

货号: D100595

规格: 50T/48S

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, 有疑问请及时联系本公司工作人员。

试剂名称	规格	保存条件
试剂一	粉剂×1 瓶	2-8°C 保存
试剂二	液体 25 mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂三	液体 2 mL×1 瓶	2-8°C 保存
试剂四	粉剂×1 瓶	2-8°C 保存
标准品	粉剂×1 支	2-8°C 保存

溶液的配制:

1. 试剂一: 临用前加入 4mL 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: 0.0982 μ mol/mL线性范围: 0.75-25 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、台式离心机、水浴锅/恒温培养箱、1 mL 玻璃比色皿、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°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. 分光光度计预热 30 min 以上, 调节波长至 510 nm, 蒸馏水调零。
2. 将 100 μmo/mL 的草酸标准液用蒸馏水稀释为 25、20、15、12、6、3、1.5、0.75μmo/mL 的标准溶液备用。
3. 操作表(在 1.5 mL 离心管中操作) :

试剂名称(μL)	空白管	测定管	标准管
试剂一	50	50	50
试剂二	375	375	375
试剂三	25	25	25
蒸馏水	50	-	-
样本	-	50	-
标准溶液	-	-	50
蒸馏水	500	500	500

混匀, 室温静置 20 min

于 1mL 玻璃比色皿中测定 510nm 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 450 μL 工作液, 50μL 样本(蒸馏水或标准溶液), 500 μL 蒸馏水。

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 (μmo/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, 1μg = 10^{-3} 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。