

## 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,其作为矿物元素的拮抗物,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。草酸可作为络合剂、漂白剂、沉淀剂以及还原剂,在医药、印染和塑料等工业领域具有广泛应用。

$Fe^{3+}$ 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°C保存	
试剂一	粉体 mg×2 支	4°C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°C保存	
试剂三	液体 3mL×1 支	4°C保存	
标准品	粉体 mg×1 支	4°C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:

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°C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、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,  $\Delta A=A$  空白-(A 测定-A 对照) (每个样本做一个自身对照)。

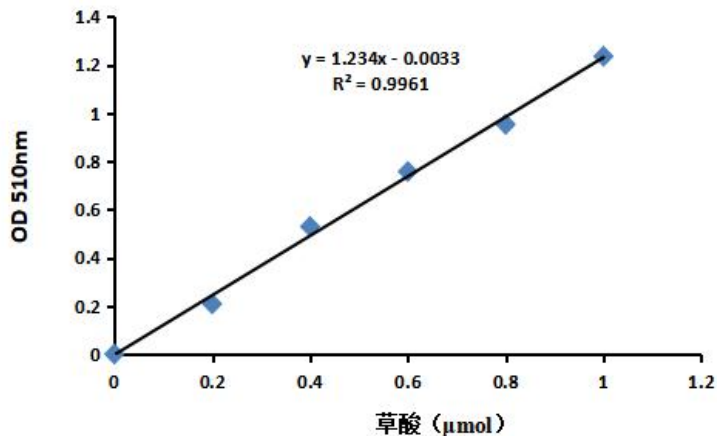
【注】1.若  $\Delta A$  小于 0.01,可以于样本制备时增加样本质量 W,或增加样本加样体积 V1 (如由

100 $\mu$ L 增至 200 $\mu$ 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 $\Delta A$  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 ( $\mu$ mol), y 为 $\Delta A$ 。



2、按照样品质量计算:

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

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 $\mu$ 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 $\mu$ 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.  $\mu$ 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。