

(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

产品货号: E-BC-K1106-M

产品规格: 48T(32 samples)/96T(80 samples)

检测仪器: 酶标仪(545-555 nm)

Elabscience®草酸盐比色法试剂盒 (提取法)

Oxalate (Oxalic Acid) Colorimetric Assay Kit (Extraction method)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: biochemical@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测血清(浆)、尿液和动(植)物组织样本中草酸盐含量。

检测原理

草酸(Oxalate)又名乙二酸，是植物体内一种简单的有机酸，具有重要的生理功能。草酸参与细胞体内 Ca^{2+} 、pH 和渗透压等的调节，以及植物病原菌防御反应与铝毒害解除等。尽管草酸有着重要的生理学功能，但过量摄入草酸也会对人体造成许多不利的影响。草酸会影响人体对钙、铁等矿质元素的吸收，增加人体患肾结石、炎症、高草酸尿症、尿毒症等疾病的风险，严重的甚至会引起草酸急性中毒，且草酸在人体内不易被氧化分解，其代谢产物会破坏人体内的酸碱平衡。

本测试盒检测原理：草酸氧化酶催化草酸盐氧化生成过氧化氢与二氧化碳，过氧化氢在酶的作用下，与色原物质反应生成有色产物，在 550 nm 处有最大吸收峰，其颜色深浅与草酸含量成正比。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size 1) (48 T)	规格 (Size 2) (96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	缓冲液 (Buffer Solution)	40 mL×1 瓶	40 mL×2 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	3 mL×1 瓶	6 mL×1 瓶	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	酶试剂 A (Enzyme Reagent A)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	酶试剂 B (Enzyme Reagent B)	粉剂×1 支	粉剂×2 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	沉淀剂 (Precipitator)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	-20℃ 保存 6 个月

试剂七 (Reagent 7)	酸溶液 (Acid Solution)	12 mL×1 瓶	24 mL×1 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	碱溶液 (Alkali Solution)	6 mL×1 瓶	12 mL×1 瓶	-20℃ 保存 6 个月
试剂九 (Reagent 9)	1 mmol/L 标准品溶液 (1 mmol/L Standard Solution)	1.8 mL×1 支	1.8 mL×1 支	-20℃ 避光 保存 6 个月
	酶标板	48 孔×1 块	96 孔×1 块	无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：酶标仪(检测波长范围 545-555 nm，最佳检测波长为 550 nm)、恒温箱(37℃)

试剂：无水乙醇

耗材：10 KD 超滤管(外管 1.5 mL，内管 0.5 mL)，pH 试纸

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25℃)，使用前检查试剂六是否有析出，析出可37℃加热至全部溶解后使用。

② 试剂四工作液的配制：

取一支试剂四用6 mL试剂一溶解，置于冰盒待用，未使用完的试剂四工作液可分装-20℃避光保存7天。

③ 试剂五工作液的配制：

取一支试剂五用0.2 mL双蒸水溶解，未使用完的试剂五工作液可分装-20℃避光保存7天。

④ 显色工作液的配制：

试剂二：试剂三：试剂五工作液按体积比=25：25：1，混合配制，现配现用，避光1 h内用完。

⑤ 不同浓度标准品的稀释：

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
标准品浓度(mmol/L)	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	1.0
1 mmol/L 标准品(μL)	0	40	60	80	100	120	140	200
试剂一(μL)	200	160	140	120	100	80	60	0

样本准备

① 样本处理

血清(浆)样本：取样本置于10 KD超滤管，12000 × g离心10 min，取超滤后的滤液，进行样本前处理。

尿液样本：直接进行样本前处理。

组织样本：按照组织样本质量(g)：试剂一体积(mL)=1：9 的比例匀浆，4℃，12000 × g 离心 10 min，取上清液，进行样本前处理。

样本前处理：

① 取 400 μL 样本，加入 200 μL 试剂六，加入 800 μL 无水乙醇，混匀，2-8℃ 静置 1 h。

② 15000 × g，10 min 离心。弃上清液后，加入 1500 μL 双蒸水，充分混匀后，15000 × g，10 min 离心。

③ 弃上清液后，加入 100 μL 试剂七，混匀待沉淀全部溶解。

④ 取步骤③溶液 50 μL 于 2 mL EP 管，加入 460 μL 试剂一，再加入 90 μL 试剂八，混匀，室温待用。(加完试剂八若由澄清变为浑浊，建议分步多次加入少量 (5-20 μL)的试剂七，观察液体变为澄清后，停止加入试剂七，检测溶液 pH 在 4-6 即可)。

处理后的样本，当天检测有效。

② 样本的稀释

在正式检测前，需选择2-3个预期差异大的样本稀释成不同浓度进行预实验，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：0.006 - 1.000 mmol/L，请参考下表稀释(仅供参考)：

样本	稀释倍数	样本	稀释倍数
10%大鼠肝组织	不稀释	10%大鼠肾组织	不稀释
10%菠菜组织	不稀释	10%南瓜组织	不稀释
人尿液	不稀释	大鼠尿液	不稀释
人血清	不稀释		

注：稀释液为试剂一。

实验关键点

样本前处理步骤②，用枪头充分悬浮沉淀使其均匀分布。

操作步骤

- ① 标准孔：取 20 μL 不同浓度的标准品溶液，分别加入相应的酶标孔中。
测定孔：取 20 μL 待测样本加入相应的酶标孔中。
- ② 向步骤①各孔中加入 100 μL 试剂四工作液。
- ③ 37°C 避光孵育 10 min。
- ④ 向步骤③各孔中加入 100 μL 显色工作液。
- ⑤ 振板 5 s，37°C 避光孵育 10 min，酶标仪于 550 nm 处检测各孔吸光度。

操作表

	标准孔	测定孔
不同浓度标准品(μL)	20	--
待测样本(μL)	--	20
试剂四工作液(μL)	100	100
37°C 避光孵育 10 min。		
显色工作液(μL)	100	100
振板 5 s，37°C 避光孵育 10 min，酶标仪于 550 nm 处检测各孔吸光度。		

结果计算

标准品拟合曲线: $y = ax + b$

血清(浆)、尿液样本中草酸盐计算公式:

$$\begin{array}{l} \text{草酸盐含量} \\ (\text{mmol/L}) \end{array} = (\Delta A - b) \div a \times f \times 3^*$$

组织样本中草酸盐含量计算公式:

$$\begin{array}{l} \text{草酸盐含量} \\ (\text{mmol/kg wet weight}) \end{array} = (\Delta A - b) \div a \div \frac{m}{v} \times f \times 3^*$$

注解:

y: 标准品 OD 值-空白 OD 值(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

x: 标准品的浓度

a: 标曲的斜率

b: 标曲的截距

ΔA : 测定孔 A-空白孔 A

m: 样本质量, g

v: 匀浆液体积, mL

f: 样本加入检测体系前的稀释倍数

3^* : 样本前处理中稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

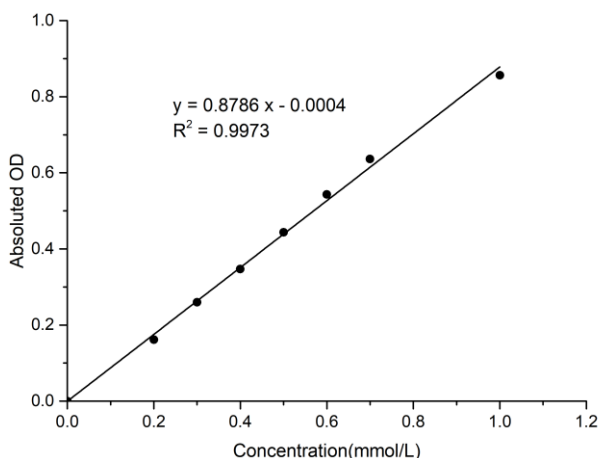
检测范围	0.006-1 mmol/L	批间差	4.5-7.2%
灵敏度	0.006 mmol/L	批内差	2.1-3.2%
加标回收率	98-100%		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量20 μL ，按照操作步骤进行实验，各点OD值如下表所示(仅供参考)：

标准品浓度 (mmol/L)	0	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	1.0
OD 值	0.042	0.211	0.302	0.392	0.502	0.578	0.682	0.926
	0.043	0.197	0.303	0.387	0.470	0.593	0.675	0.872
平均 OD 值	0.043	0.204	0.303	0.390	0.486	0.586	0.679	0.899
绝对 OD 值	0.000	0.162	0.260	0.347	0.444	0.543	0.636	0.857

②按上表数据绘制标准曲线，如下图所示：



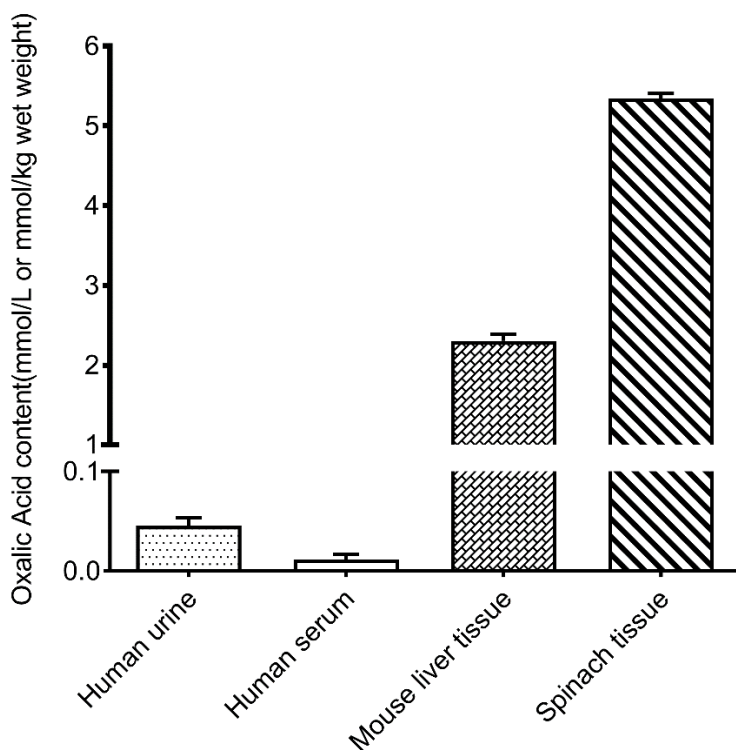
附录2 实例分析

例如检测人尿液样本(数据仅供参考):

取20 μL 人尿液处理后溶液加入到酶标板中, 按操作表操作, 结果如下:
标准曲线为 $y = 0.8786x - 0.0004$, 测定孔平均OD值为0.055, 空白孔平均OD值为0.043, 计算结果为:

$$\text{草酸盐含量} = (0.055 - 0.043 + 0.0004) \div 0.8786 \times 3 = 0.042 \text{ mmol/L} \\ (\text{mmol/L})$$

按说明书操作, 测定人尿液(加样量20 μL)、人血清(加样量20 μL)、小鼠肝组织(10%组织匀浆, 加样量20 μL)、菠菜组织(10%组织匀浆, 加样量20 μL)的草酸盐含量(如下图所示):



声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

附录4 客户发表文献

1. Zhang X, He C, Chen Y, et al. Cyclic reactions-mediated self-supply of H₂O₂ and O₂ for cooperative chemodynamic/starvation cancer therapy[J]. *Biomaterials*, 2021, 275:120987-. IF:12.479
2. Liu Q, Zhang T X, Zheng Y D, et al. Calixarene-Embedded Nanoparticles for Interference-Free Gene–Drug Combination Cancer Therapy[J]. *Small*, 2021, 2006223. IF:11.459
3. He C, Zhang X, Chen C, et al. A solid lipid coated calcium peroxide nanocarrier enables combined cancer chemo/chemodynamic therapy with O₂/H₂O₂ self-sufficiency[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 122. IF:8.203
4. Omar N, Frank J, Kruger J, et al. Effects of High Intakes of Fructose and Galactose, with or Without Added Fructooligosaccharides, on Metabolic Factors, Inflammation, and Gut Integrity in a Rat Model[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2021:2001133. IF:5.914
5. Yu H, Zhang L, Chen P, et al. Dietary bile acids enhance growth, and alleviate hepatic fibrosis induced by a high starch diet via AKT/FOXO1 and cAMP/AMPK/SREBP1 pathway in *Micropterus salmoides*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10. IF:3.367
6. Chang X, Zhang P, Xu X X, et al. Total Glucosides of Paeony Inhibited Autophagy and Improved Acute Kidney Injury Induced by Ischemia-Reperfusion via the lncRNA TUG1/miR-29a/PTEN Axis[J]. *Dove Press*, 2021. IF:3.349
7. Al-Kuraishy H M, Al-Gareeb A I, Al-Naimi M S. Renoprotective effect of irbesartan in a rat model of gentamicin-induced nephrotoxicity: Role of oxidative stress[J]. *Journal of laboratory physicians*, 2019, 11(3): 200.

