（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-K892-M

产品规格：96T(40 samples)

检测仪器：酶标仪(545-555 nm)

Elabscience®草酸盐比色法测试盒

Oxalate (Oxalic Acid) Colorimetric Assay Kit

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

本试剂盒适用于血清血浆与植物组织中草酸盐测定。

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 POD 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)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	工作液 (Working Solution)	12 mL×1 瓶	-20 ℃ 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	显色剂 A (Chromogenic Agent A)	12 mL×1 瓶	-20 ℃避光 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	显色剂 B (Chromogenic Agent B)	12 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×2 支	-20 ℃ 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	酶试剂 B (Enzyme Reagent B)	粉剂×2 支	-20 ℃ 保存 6 个月
试剂六 (Reagent 6)	调节剂 (Regulator)	12 mL×1 瓶	-20 ℃ 保存 6 个月
试剂七 (Reagent 7)	澄清剂 (Clarificant)	2 mL×1 瓶	-20 ℃ 保存 6 个月
试剂八 (Reagent 8)	1 mmol/L 标准品 (1 mmol/L Standard)	2 mL×1 瓶	-20 ℃ 保存 6 个月
	96 孔酶标板	1 板	
	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)

试剂：双蒸水或去离子水

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温。

② 试剂四工作液配制：

取一支试剂四用5 mL试剂一溶解，置于冰盒待用，2-8 ℃可保存两天。

③ 试剂五工作液的配制：

取一支试剂五用0.25 mL双蒸水溶解，2-8 ℃可保存两天。

④ 工作液的配制：

试剂二：试剂三：试剂五工作液按体积比=100：100：1混合配制，现配现用，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**	**0.4**	**0.5**	**0.6**	**0.7**	**0.8**	**1.0**
1 mmol/L 标准品(μL)	0	40	80	100	120	140	160	200
双蒸水(μL)	200	160	120	100	80	60	40	0

样本准备

① 样本处理

血清血浆样本：可直接测定。

植物组织样本：植物组织样本匀浆介质为双蒸水，匀浆后 10000 ×g 离心取上清，上清液：试剂六按体积比=1：1 混匀，静置 10 min，室温待用。

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：0.02-1 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
大鼠血浆	不稀释	人血浆	不稀释
10%绿萝组织	2-3		

注：稀释液为双蒸水。

实验关键点

① 检测样本时根据预实验结果调节样本稀释比例。

② 使用酶试剂时注意试剂保存时间与保存条件。

操作步骤

① 测定孔：向酶标板相应的测定孔加入 10 μL 待测样本。

对照孔：向酶标板相应的对照孔加入 10 μL 待测样本。

标准孔：向酶标板相应的标准孔中加入 10 μL 不同浓度标准品。

② 向步骤①测定孔与标准孔中加入 80 μL 试剂四工作液，

向步骤①中对照孔中加入 80 μL 双蒸水。

③ 37 ℃ 下孵育 10 min。

④ 向步骤③各孔中加入 120 μL 工作液。

⑤ 室温静置 2 min。

⑥ 向步骤⑤各孔中加入 20 μL 试剂七。

⑦ 振板 5 s，酶标仪于 550 nm 处检测各孔吸光度。

操作表

	标准孔	**测定孔**	**对照孔**
待测样本(μL)	--	10	10
不同浓度标准品(μL)	10	--	--
试剂四工作液(μL)	80	80	--
双蒸水(μL)	--	--	80
37 ℃ 下孵育 10 min			
工作液(μL)	120	120	120
室温静置 2 min			
试剂七(μL)	20	20	20
振板 5 s，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)样本中草酸盐计算公式：

$$\underset{(\mathrm{mmol/L})}{\text{草酸盐含量}} = (\Delta A - b) \div a \times f$$

植物组织样本中草酸盐计算公式：

$$\underset{(\mathrm{mmol/kg\ wet\ weight})}{\text{草酸盐含量}} = (\Delta A - b) \div a \div \frac{m}{V} \times 2^{*} \times f$$

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：样本测定孔 OD 值-样本对照孔 OD 值

2*：样本前处理过程中稀释的倍数

m：样本质量(0.1 g)

V：样本匀浆体积(0.9 mL)

f：样本加入检测体系前的稀释倍数

附录1 关键数据

1. 技术参数

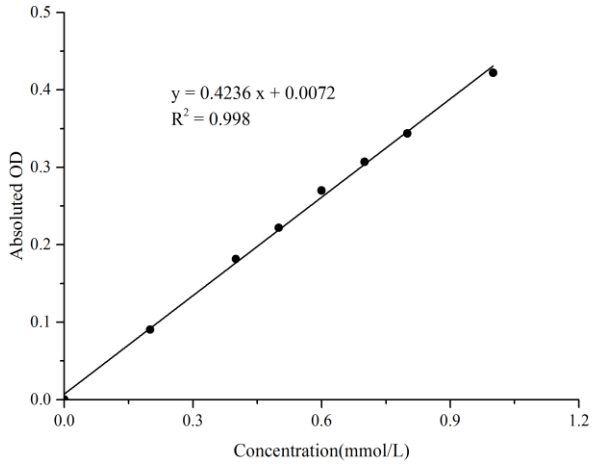
检测范围	0.02-1 mmol/L	**平均批间差**	4.7 %
灵敏度	0.02 mmol/L	**平均批内差**	3.0 %
平均回收率	95 %		

2. 标准曲线(数据仅供参考)

①不同浓度的标准品加样量10 μL，按照操作步骤进行实验，于酶标仪550 nm处测得吸光度，各点OD值如下表所示(仅供参考)：

标准品浓度 (mmol/L)	**0**	**0.2**	**0.4**	**0.5**	**0.6**	**0.7**	**0.8**	**1.0**
OD 值	0.045	0.134	0.226	0.267	0.317	0.354	0.385	0.461
	0.047	0.139	0.229	0.270	0.315	0.352	0.395	0.476
平均 OD 值	0.046	0.137	0.228	0.268	0.316	0.353	0.390	0.468
绝对 OD 值	0.000	0.090	0.182	0.222	0.270	0.307	0.344	0.422

②按上表数据绘制标准曲线，如下图所示：



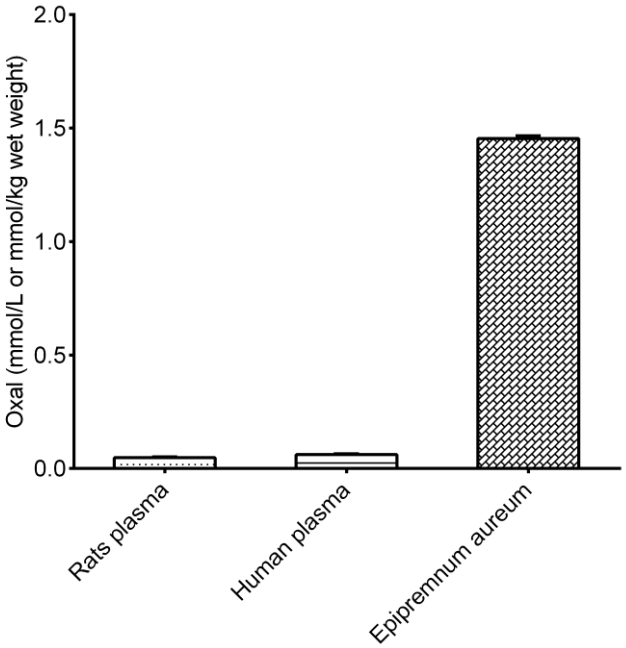
附录2 实例分析

例如检测绿萝样本(数据仅供参考)：

取10 μL 10%匀浆绿萝组织样本上清参考说明书操作步骤进行测定，结果如下：标准曲线：y = 0.4236 x + 0.0072，测定孔OD值：0.094，对照孔OD值：0.053，待测样本草酸盐含量计算结果为：

草酸盐含量 (mmol/kg wet weight) = (0.094 - 0.053 - 0.0072) ÷ 0.4236 × 2 × 9 = 1.43 mmol/kg wet weight

按说明书操作，测定大鼠血浆 (加样量10 μL)、人血浆(加样量10 μL)和10%绿萝组织(加样量10 μL)中草酸含量(如下图)：



附录3 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
样本测不出值	样本本身草酸盐含量低	提高样本匀浆浓度
	样本内有干扰物质	参考说明书样本处理加入试剂六

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同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.