



钙含量检测试剂盒（邻甲酚酞络合铜比色法）

可见分光光度法

货号: R45115-48S

产品简介:

钙(Calcium)是一种金属元素, 常温下呈银白色晶体, 动物的骨骼、蛤壳、蛋壳都含有碳酸钙。检测生命体钙含量, 主要通过检测钙离子浓度实现的。

本试剂盒利用溶液中钙离子在碱性条件下能与邻甲酚酞络合铜(OCPC) 结合, 生成紫红色的络合物, 加入镁离子螯合剂, 去除镁离子背景干扰。通过检测生成有色络合物于575nm处的吸光值, 即可计算出总钙含量。

试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体60mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体22mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体22mL×1瓶	4℃保存	
标准品	液体1mL×1支	4℃保存	2.5mmol/L的钙标准品。

所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿(光径1cm)、 可调式移液器、离心机、去离子水(无钙离子)。

钙含量检测:

建议正式实验前选取2个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

①液体样品: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。



②组织样本: 取约0.1g 组织样本, 加1mL 提取液研磨, 粗提液全部转移到EP管中, 12000rpm, 常温离心10min, 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1:5~10的比例进行提取。

③细菌/细胞样本: 先收集细菌或细胞到离心管内, 离心后弃上清; 取约500万细菌或细胞加入1mL 提取液, 超声波破碎细菌或细胞(冰浴, 功率200W, 超声3s, 间隔10s, 重复30次); 12000rpm 离心10min, 取上清待测。

【注】:若增加样本量, 可按照细菌/细胞数量(10^4):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

2、上机检测:

①可见分光光度计预热30min, 设定波长到575nm, 蒸馏水调零。

②所有试剂解冻至室温, 按照试剂一: 试剂二为1:1配制反应mix(4℃ 避光保存三天)。

③ 在 1mL 玻璃比色皿(光径 1cm) 中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	标准管(仅测一次)	空白管(仅测一次)
样本	10		
标准品		10	
蒸馏水			10
反应mix	800	800	800
混匀, 室温放置2min, 于波长575nm处读取各管吸光度A。			

结果计算:

1、按液体体积计算:

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V 标}) \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D} \\ &= 2.5 \times (\text{A 测定} - \text{A 空白}) \div (\text{A 标准} - \text{A 空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

2、按样本质量计算:

$$\text{钙含量}(\mu\text{mol/g})$$



$$=(C \text{ 标准} \times V \text{ 标}) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$=2.5 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D$$

钙含量($\mu\text{g/g}$)

$$=(C \text{ 标准} \times V \text{ 标}) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A) \div (W \times V1 \div V) \times 40.078 \times D$$

$$=100.2 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div W \times D$$

3、按细胞数量计算:

钙含量($\mu\text{mol}/10^6\text{cell}$)

$$=(C \text{ 标准} \times V \text{ 标}) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (5 \times V1 \div V) \times D$$

$$=2.5 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 5 \times D$$

钙含量($\mu\text{g}/10^6\text{cell}$)

$$=(C \text{ 标准} \times V \text{ 标}) \times (A \text{ 测定} - A) \text{ 空白} \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (5 \times V1 \div V) \times 40.078 \times D$$

$$=100.2 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div 5 \times D$$

4、按蛋白浓度计算:

钙含量($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)

$$=(C \text{ 标准} \times V \text{ 标}) \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div (V1 \times C_{\text{pr}}) \times D$$

$$=2.5 \times (A \text{ 测定} - A \text{ 空白}) \div (A \text{ 标准} - A \text{ 空白}) \div C_{\text{pr}} \times D$$

C 标准--钙标品浓度, $2.5\text{mmol/L}=2.5\mu\text{mol/mL}$;

D--- 稀释倍数, 未稀释即为1;

V 标---标准品加入体积, 0.01mL ;

V1--- 加入样本体积, 0.01mL ;

V--- 提取液体积, 1mL ;

W--- 取样质量, g;

40.078-----钙的分子量;

5---细胞数量, 百万。

C_{pr}---样本蛋白质浓度, mg/mL ; 建议使用本公司BCA 蛋白质含量测定试剂盒。