



钙含量检测试剂盒（邻甲酚酞络合铜比色法）

微板法

货号: R45415-96S

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100mL×1瓶	4℃保存	
试剂一	液体11mL×1瓶	4℃保存	
试剂二	液体11mL×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:

酶标仪、96孔板、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酶标仪预热30min,设定波长到575nm。

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96孔板中依次加入:

试剂名称(μL)	测定管	标准管(仅测一次)	空白管(仅测一次)
样本	5		
标准品		5	
蒸馏水			5
反应mix	200	200	200
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:

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\text{mmol/L}) &= (\text{C标准} \times \text{V标}) \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{V1} \times \text{D} \\ &= 2.5 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \times \text{D}\end{aligned}$$

2、按样本质量计算:

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\mu\text{mol/g}) &= (\text{C标准} \times \text{V标}) \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div (\text{W} \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 2.5 \times (\text{A测定} - \text{A空白}) \div (\text{A标准} - \text{A空白}) \div \text{W} \times \text{D}\end{aligned}$$



钙含量($\mu\text{g/g}$)

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

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

3、按细胞数量计算:

钙含量($\mu\text{mol}/10^6\text{cell}$)

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

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

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($\mu\text{mol}/\text{mg prot}$)

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

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

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, 0.005mL ;

V1--- 加入样本体积, 0.005mL ;

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。

Cpr---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。