

钙含量（邻甲酚酞络合铜比色法）检测试剂盒说明书

（微板法 96 样）

一、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。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 11mL×1 瓶	4°C保存	
试剂二	液体 11mL×1 瓶	4°C保存	
标准品	液体 1mL×1 支	4°C保存	2.5mmol/L 的钙标准品。

三、所需仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水（无钙离子）。

四、钙含量检测：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

- ① 液体样品：澄清的液体样本如血清可直接检测。
- ② 组织样本：取约 0.1g 组织样本，加 1mL 生理盐水研磨，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 生理盐水，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°C避光保存三天）。
- ③ 在 96 孔板中依次加入：

试剂名称（ μ L）	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。

- 【注】：1. 测定管的 A 值若超过 2，可把样本用蒸馏水稀释后测定，稀释倍数 D 代入计算公式。
2. 若 A 测定值接近 A 空白值，则可以增加样本加样体积 V1（如增至 25 μ L，则反应 mix 减为 180 μ L；标准管仍为 5 μ L，蒸馏水 20 μ L，反应 mix 为 180 μ L；空白管为蒸馏水 25 μ L，反应 mix 为 180 μ L），则改变后的 V1 需带入公式计算。

五、结果计算：

1.按液体体积计算：

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

2.按样本质量计算：

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

3.按细胞数量计算：

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times 10^3 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 5 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D\end{aligned}$$

4.按蛋白浓度计算：

$$\begin{aligned}\text{钙含量}(\mu\text{mol}/\text{mg prot}) &= (C_{\text{标准}} \times V_{\text{标}}) \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div (V1 \times Cpr) \times D \\ &= 2.5 \times (A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \div Cpr \times D\end{aligned}$$

C 标准---钙标品浓度, 2.5mmol/L=2.5 μ mol/mL； V 标---标准品加入体积, 0.005mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1； V1---加入样本体积， 0.005mL；

V---提取液体积， 1mL； W---取样质量， g；

500---细胞数量， 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。