

钙含量（邻甲酚酞络合铜比色法）检测试剂盒说明书

（货号：PB1181F48 分光法 48 样）

有效期：3 个月

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！

测定意义：

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。

测定原理：

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。

需自备的仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、离心机、可调式移液器、微量石英比色皿/96 孔板、研钵和蒸馏水（无钙离子）

试剂的组成和配制：

试剂一：液体 22ml×1 瓶，4℃避光保存；

试剂二：液体 9ml×1 瓶，4℃避光保存；

标准品：液体 1ml×1 瓶，2.5mmol/L 钙标准品溶液，4℃保存；

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。

测定步骤：

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 575nm，蒸馏水调零。

2、工作液配置：试剂一：试剂二：蒸馏水（无钙离子）=1:0.4:0.6

3、加样表：

试剂（ μL ）	空白管	标准管	测定管
样本			10
标准品		10	
蒸馏水	10		
工作液	800	800	800

混匀，室温放置 2min，于波长 575nm 处读取各管吸光度 A，分别记为 A 测定管，A 标准



管，A 空白管，计算 ΔA 测定=A 测定管-A 空白管； ΔA 标准=A 标准管-A 空白管。

钙含量计算：

1.按液体体积计算：

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

2.按样本质量计算：

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

3、按细胞数量计算：

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

4、按蛋白浓度计算：

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

W：样本质量，g；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；V：加入的提取液体积，1mL；500：细胞数量，500万； 10^{-3} ：1mmol/L= 10^{-3} mmol/ml；C标准：钙标品浓度，2.5mmol/L=2.5 μ mol/mL。

注意事项：

1. 溶血样本对检测有干扰，尽量避免采用溶血样本
2. OCPC 显色液偶尔会结晶析出，配制成的显色工作液有时会析出，可取上清液使用。
3. 该试剂盒对钙离子敏感度较高，测定器皿一定要干净，最好使用一次性聚乙烯塑料器皿。
4. 可用血清或肝素抗凝血浆样本，不宜采用钙整合剂及草酸盐做抗凝剂的样本。
5. 胆红素可产生负干扰，含有较高胆红素的样本可用血清对照消除该干扰。
6. 在该试剂盒条件下建议待测样品中钙离子浓度 0.5mmol/L -5mmol/L 为宜，否则有可能造成检测误差。
7. 如果样品浓度过高，应用蒸馏水稀释后重测，结果乘以稀释倍数。