

二氧化碳(CO₂)含量检测试剂盒说明书

(货号: ADS-W-D026-48 微板法 48 样 有效期: 3 个月)

一、指标介绍:

磷酸烯醇丙酮酸(PEP) 和 HCO₃⁻在磷酸烯醇丙酮酸羧化酶和 Mg²⁺作用下生成草酰乙酸和磷酸, 草酰乙酸和苹果酸脱氢酶反应, 生成苹果酸, 同时将 NADH 氧化成 NAD⁺, NADH 消耗的速率与样品中二氧化碳的含量成正比, 通过测定 340nm 处吸光度的变化率, 即可得到样品中二氧化碳的含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂组分	试剂规格	存放温度	注意事项
试剂一	液体 5.5mL×1 瓶	4℃避光保存	
标准管	粉剂 1 支	4℃避光保存	每支: 1. 临用前 8000g 4℃离 2min 使试剂落入管底; 2. 加 0.2ml 蒸馏水, 一周内用完, 配成的浓度见标签。

三、实验器材:

研钵(匀浆机)、天平、冰盒(制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、水浴锅(烘箱、培养箱、金属浴)、96 孔板、离心管、酶标仪、蒸馏水(去离子水、超纯水均可)

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本(例如不同类型或分组)进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取:

① 血清, 或肝素血浆。应尽快分离血清或血浆, 并保存于 2℃-8℃。不可将标本暴露于空气。分离的样品需密闭保存, 防止二氧化碳的损失, 并在收集后的最短时间内完成检测。

② 样本中抗坏血酸浓度≤1704μmol/L, 胆红素浓度≤860μmol/L, 血红蛋白浓度≤5.00g/L, 甘油三酯浓度≤15.8mmol/L 时未观察到明显干扰。

2、检测步骤:

① 酶标仪预热 30min (等待仪器过自检程序亦可), 设定波长到 340nm。

② 所有试剂解冻至室温, 在 96 孔板中依次加入:

试剂组分 (μL)	测定管	标准管 (仅做一次)
样本	5	
标准品		5
试剂一	100	100
蒸馏水	100	100
混匀, 37℃条件下, 30s 时于 340nm 处读取吸光值 A1, 5min30s 时读取 A2。ΔA=A1-A2。		

【注】：1. 若 ΔA 大于 0.6, 可用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 值小于 0.01, 可增加样本加样体积 V1 (如由 5 μ L 增至 20 μ L, 标准管是 5 μ L 标准品和 15 μ L 蒸馏水; 其他试剂均保持不变)。则改变后的 V1 代入公式重新计算。

五、结果计算:

1、按照体积计算:

$$\text{CO}_2 \text{ 含量 (mmol/L)} = (C_{\text{标准}} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div V_1 \times D = C_{\text{标准}} \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}) \times D$$

C 标准---标品浓度, mmol/L;

V1---加入样本体积, 0.005mL;

V2---加入标准品体积, 0.005mL;

W---质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

精密度: 重复性 CV 不大于 5%; 批间相对极差 R 不大于 8%。