

二氧化碳(CO₂)含量检测试剂盒说明书

(货号: G1234W 微板法 96 样)

一、产品简介:

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:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 11.5mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	标准品浓度见标签。

三、所需仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、水浴锅、蒸馏水。

四、二氧化碳(CO₂)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,避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

- 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。

【注】: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 细菌/细胞样本:先收集细菌/细胞到离心管内,离心后弃上清;取约 500 万细菌/细胞加入 1mL 生理盐水,超声波破碎细菌/细胞(冰浴,功率 200W,超声 3s,间隔 10s,重复 30 次);12000rpm 室温离心 10min 取上清待测,上清需密闭保存,防止二氧化碳的损失,并在最短时间内完成检测。

【注】:若增加样本量,可按照细菌/细胞数量(10⁴):提取液(mL)为 500~1000:1 的比例进行提取。

- ③ 组织样本:取约 0.1g 组织,加入 1mL 生理盐水,进行冰浴匀浆。4℃×12000rpm 离心 10min,取上清待测,上清需密闭保存,防止二氧化碳的损失,并在最短时间内完成检测。

【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。

2、上机检测:

- ① 酶标仪预热 30min,设定波长到 340nm。
- ② 所有试剂解冻至 37℃或于水浴锅(37℃)中孵育 10-15min。
- ③ 在 96 孔板中依次加入:

试剂名称(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

五、结果计算:

1、按照体积计算:

$$\text{CO}_2 \text{ 含量}(\text{mmol/L}) = (\text{C}_{\text{标准}} \times \text{V}_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div \text{V}_1 \times \text{D} = \text{C}_{\text{标准}} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \times \text{D}$$

2、按细胞数量计算:

$$\text{CO}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol}/10^6\text{cell})=(C \text{ 标准} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (5 \times V_1 \div V) \times D = C \text{ 标准} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div 5 \times D$$

3、按样本质量计算:

$$\text{CO}_2 \text{ 含量}(\mu\text{mol}/\text{g})=(C \text{ 标准} \times V_2) \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div (W \times V_1 \div V) \times D = C \text{ 标准} \times \Delta A_{\text{测定}} \div \Delta A_{\text{标准}} \div W \times D$$

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

V1---加入样本体积, 0.005mL;

V2---加入标准品体积, 0.005mL;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。

V---提取液体积, 1mL;

5---细菌/细胞数量, 百万;

精密度---重复性 CV 不大于 5%; 批间相对极差 R 不大于 8%。