

## 二氧化碳(CO<sub>2</sub>)含量检测试剂盒说明书

(货号: G1234W48 微板法 48 样)

### 一、产品简介:

磷酸烯醇丙酮酸(PEP) 和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>在磷酸烯醇丙酮酸羧化酶和 Mg<sup>2+</sup>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<sup>+</sup>, 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 5.5mL×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(CO<sub>2</sub>)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(10<sup>4</sup>): 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
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。		

## 五、结果计算：

### 1、按照体积计算：

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

### 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：

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

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

V2---加入标准品体积，0.005mL；

V---提取液体积，1mL；

精密密度---重复性 CV 不大于 5%；批间相对极差 R 不大于 8%。

V1---加入样本体积，0.005mL；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

5---细菌/细胞数量，百万；