二氧化碳(CO_2)含量检测试剂盒说明书

（货号：ADS-W-D026　微板法 96 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 11.5mL×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△A 值小于 0.01，可增加样本加样体积 V1（如由 5μL 增至 20μL，标准管是 5μL 标准品和 15μL 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：

CO_2 含量 (mmol/L)=(C 标准×V2)×$\Delta A_{测定}$÷$\Delta A_{标准}$÷V1×D= C 标准×($\Delta A_{测定}$-$\Delta A_{空白}$)÷($A_{标准}$- $A_{空白}$)×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%。