

全血乳酸（Lactic Acid LD）测定试剂盒说明书

（货号：A019-1-1 测全血 50 管/48 样）

一、测定原理：

以 NAD⁺为氢受体，LDH 催化乳酸脱氢产生丙酮酸，使 NAD⁺转化成 NADH。其中 PMS 递氢使 NBT 还原为紫色呈色物，呈色物的吸光度在 530nm 时与乳酸含量成线性关系。

二、试剂组成与配制：（试剂盒有效期 6 个月）

蛋白沉淀剂：溶液 50mL×1 瓶，室温保存，如有结晶，则取上清进行实验。

试剂一：酶稀释液 60mL×1 瓶， 2℃～8℃保存。

试剂二：酶贮备液 0.6 mL×1 支，2℃～8℃保存；

试剂三：显色溶液 6 mL×2 瓶， 2℃～8℃避光保存。

试剂四：液体 0.6mL×1 支，2℃～8℃保存。

试剂五：终止液，60 mL×2 瓶，2℃～8℃保存。

试剂六：3mmol/L 标准液，2 mL×1 支，2℃～8℃保存。

酶工作液配制：临用前按试剂一：试剂二：试剂四=100：1：1 的体积比进行混合，现用现配，2℃～8℃保存当天有效。

三、所需仪器及试剂：

可见分光光度计及 1cm 光径比色皿（或酶标仪（530nm）及 96 孔板），涡旋混匀器，37℃水浴锅（或恒温箱），离心机，蒸馏水。

四、操作步骤：

1、前处理：

上清液制备：取待测样本 0.1mL,加入蛋白沉淀剂 0.6mL 混匀，3500～4000 转/分，离心 10 分钟，取上清液按操作表进行测定。

[注]：1、全血及时用蛋白沉淀剂制备成乳酸上清液。

2、制成的乳酸上清于 4℃或者 0℃以下保存，15～30 天稳定不变。

3、如果血样很少，可以取 0.05mL 全血加 0.3mL 蛋白沉淀剂（或取需要量按相应比例添加）。

2、操作表：

	空白管	标准管	测定管
蒸馏水（mL）	0.02		
3mmol/L 标准液（mL）		0.02	
上清液（mL）			0.02
酶工作液（mL）	1	1	1
试剂三（mL）	0.2	0.2	0.2
混匀，37℃水浴准确反应 10 分钟			
试剂五（mL）	2	2	2
混匀，波长 530nm，1cm 光径，蒸馏水调零，分光光度计测定各管 OD 值(A)(或是每管吸出 200μL 反应液，加到 96 孔板中，酶标仪 530nm 处读数)。			

注：在批量实验前需要进行预实验，以确定测定绝对 OD（A 测定-A 空白）在 0.05～0.35 之间。如果测定绝对 OD 小于 0.05，则需要加大样本上清浓度（或是增加上清加入量）重新测定；如果测定绝对 OD 大于 0.35，则需要将样本上清稀释后重新测定。

五、计算：

1、计算公式：

全血乳酸含量 (mmol/L) = $\frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}} \times C_{\text{标准}} \times 7 \times N$

C_{标准} 为标准液浓度,3mmol/L;
7 为样本前处理制备上清液时的稀释倍数;
N 为样本前处理后，测试前的稀释倍数。

六、注意点：

- 1、应取空腹或静止状态下的静脉血，并避免血液淤滞，如用止血带，应在针头刺入静脉后马上放开，然后等 2 分钟后再抽血。
- 2、血液要新鲜，最好是当天完成，如果当天完不成，可将样本进行样本前处理后，将上清液 4℃或-20℃保存可稳定 15～30 天。
- 3、蛋白沉淀剂如有结晶，则取上清进行实验。

附录 I：乳酸标准曲线的制备

1、前处理：

将 6mmol/L 的乳酸标准液用蒸馏水稀释成不同浓度：1mmol/L、2mmol/L、3mmol/L、4mmol/L、5mmol/L、6mmol/L，进行标准曲线的制备。（标准曲线仅供参考，用户可以不~~做~~，6mmol/L 标准液本试剂盒不提供，如有需要请咨询另购）

2、操作表：

	空白管	标准管
蒸馏水（mL）	0.02	
不同浓度的标准液（mL）		0.02
酶工作液（mL）	1	1
试剂三（mL）	0.2	0.2
混匀，37℃水浴准确反应 10 分钟		
试剂五（mL）	2	2
混匀，波长 530nm，1cm 光径，蒸馏水调零，分光光度计测定各管吸光度值 A（或是每管吸出 200μL 反应液，加到 96 孔板中，酶标仪 530nm 处读数）		

3、测定结果：

乳酸标准浓度 (mmol/L)	测定 OD 值	绝对 OD 值
0	0.076	0
1	0.174	0.098
2	0.281	0.205
3	0.384	0.308
4	0.478	0.402
5	0.558	0.482
6	0.633	0.557

4、绘图如下：

