

全血乳酸（Lactic Acid LD）测定试剂盒说明书(精简版)

(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、试剂组成及配制：（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， 4℃～8℃保存。

试剂二：酶贮备液 0.6 mL×1 支，4℃～8℃保存；

酶工作液的配制：临用前将试剂二（酶贮备液）和试剂一（酶稀释液）按照 1：100 的体积比进行混合，现用现配，4℃保存 24 小时内有效；

试剂三：显色溶液 6 mL×2 瓶， 4℃～8℃避光保存。

试剂四：粉剂×2 支，短期内使用可放 4℃～8℃冰箱，长期存放请置-20℃以下。(注:粉剂量较少,可能附着于管壁或盖子上,并非空管,如使用时肉眼不可见,可将其 4000 转/分钟离心 2 分钟后使用)

显色剂的配制:取 1 支试剂四粉剂溶于 1 瓶试剂三溶液中，混匀，使二者充分混合溶解，配成显色剂，2℃～8℃避光保存 2 周内有效。

试剂五：终止液，60 mL×2 瓶， 4℃～8℃保存。

试剂六：3mmol/L 标准液，2 mL×1 支， 4℃～8℃保存。

三、所需仪器耗材及试剂：

- 1、含 530nm 波长的分光光度计及 1cm 光径比色皿（或酶标仪及 96 孔板）
- 2、37℃恒温水浴箱或气浴箱
- 3、漩涡混匀器及低速离心机（4000rpm）
- 4、微量移液器及计时器
- 5、一次性塑料试管或离心管
- 6、蒸馏水
- 7、血红蛋白测定试剂（本公司有售）

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、制成的乳酸上清冰箱 4℃或者 0℃以下保存，15～30 天稳定不变。
3、如果您的血样很少，您可以取 0.05mL 全血加 0.3mL 蛋白沉淀剂。

2、操作表：

	空白管	标准管	测定管
双蒸水（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
显色剂（mL）	0.2	0.2	0.2
混匀，37℃水浴准确反应 10 分钟			
终止液（mL）	2	2	2
混匀，530 nm，1cm 光径，双蒸水调零，测定各管吸光度值			

五、计算：

1、计算公式：

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

C 标准:标准液浓度,3mmol/L;

N:样本前处理稀释倍数,7。

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。
- 4、在批量实验前需要进行预实验，以确定测定绝对 OD（测定 OD 值-空白 OD 值）在 0.05～0.35 之间。如果测定绝对 OD 小于 0.05，则需要加大样本浓度重新测定；如果测定绝对 OD 大于 0.35，则需要将样本稀释后重新测定。

附录 I：乳酸标准曲线的制备

1、前处理：

将 6mmol/L 的乳酸标准用双蒸水稀释成不同浓度：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，而且 6mmol/L 标准液本试剂盒不提供，如有需要请咨询本公司）

2、操作表：

	空白管	标准管
双蒸水（mL）	0.02	
不同浓度的标准液（mL）		0.02
酶工作液（mL）	1	1
显色剂（mL）	0.2	0.2
混匀，37℃水浴准确反应 10 分钟		
终止液（mL）	2	2
混匀，530 nm，1 cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度值		

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：

