

乳酸（LD）测试盒测/血清、组织等

比色法 50 管/48 样

一、测定原理：

以 NAD⁺ 为氢受体，LDH 催化乳酸(Lactic Acid) 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 时与乳含量成线性关系。

二、试剂组成及配制：

试剂一：酶稀释液 60ml×1 瓶，2℃~8℃保存 6 个月。

试剂二：酶贮备液 0.6 ml×1 支，2℃~8℃保存 6 个月。

酶工作液配制：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，2℃~8℃保存 24 小时内有效。

试剂三：黄色透明液体 6 ml×2 瓶，2℃~8℃避光保存 6 个月。

试剂四：粉剂×2 支，短期内使用可放 4℃~8℃冰箱，长期（6 个月）存放请置-20℃以下。

显色剂的配制：使用前取试剂四粉剂 1 支倒入 1 瓶试剂三液体中，待粉剂全部溶解后，用微量移液器取少许液体打入小离心管中，反复颠倒离心管，再用微量移液器将离心管中的液体转移到瓶中，如此反复 2~3 次，使二者充分混合，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，2℃~8℃保存 6 个月。

试剂六：3 mmol/L 标准品，2 ml×1 支，2℃~8℃保存 6 个月。

三、操作步骤：

	空白管	标准管	测定管
双蒸水（ml）	0.02		
3mmol/L 标准品（ml）		0.02	
待测样本（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，波长 530 nm，1 cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度值。			

四、注意事项：

- 1、血清、血浆、组织块置于冰箱-20℃冷冻，可保存 1 个月左右；-70℃冷冻可保存 2~3 个月。温度越低保存时间越长。解冻后的样本或组织匀浆必须当天测定。
- 2、严重溶血及黄疸会使得测定结果偏高。
- 3、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。

五、测定意义及范围：

乳酸是糖无氧氧化(糖酵解)的代谢产物。乳酸产生于骨骼，肌肉，脑和红细胞。经肝脏代谢后由肾分泌排泄。血乳酸测定可反映组织氧供和代谢状态以及灌注量不足。乳酸水平的增高可见于多种临床疾病。本试剂盒适用于检测血清、组织、发酵液、细胞、培养液等中乳酸(LD)的含量。

七、所需仪器设备：

- 1、721 或 722 等可见光分光光度计（有对应波长的酶标仪或半自动生化分析仪）
- 2、37℃恒温水浴箱或气浴箱
- 3、漩涡混匀器
- 4、微量移液器

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。

2、操作表：

	空白管	标准管
双蒸水 (ml)	0.02	
不同浓度的标准品 (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，波长 530 nm，1cm 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	绝对 OD
--------------------	-------	-------

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

混匀，波长 530 nm，1cm 光径，双蒸水调零，测各管吸光度值。

4、绘图如下：

