

全血乳酸（LD）测定试剂盒

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 时与乳酸含量成线性关系。

二、试剂组成及配制：

蛋白沉淀剂：

溶液 50ml×1 瓶，室温保存 6 个月，如有结晶，则取上清进行实验。

试剂一：酶稀释液 60ml×1 瓶，4℃~8℃冰箱保存 6 个月。

试剂二：酶贮备液 0.6 ml×1 支，4℃~8℃冰箱保存 6 个月；用时用一次性吸头进行取样。

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℃避光冰箱保存 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，4℃~8℃冰箱避光保存。

试剂五：终止液，60 ml×2 瓶，4℃~8℃冰箱保存 6 个月。

试剂六：3mmol/L 标准液，2 ml×1 支，4℃~8℃冰箱保存 6 个月。

三、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°C 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。 | | | |

四、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°C 或 -20°C 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。

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 | |
| 不同浓度的标准液 (ml) | | 0.02 |
| 酶工作液 (ml) | 1 | 1 |
| 显色剂 (ml) | 0.2 | 0.2 |
| 混匀, 37°C 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：

