

乳酸 (Lactic Acid, LA) 含量检测试剂盒 (分光光度计法)
(本试剂盒仅供科研使用)

产品包装

产品编号	产品名称	产品规格
YFX0389	乳酸 (Lactic Acid) 含量检测试剂盒	50 管/24 样

产品内容

名称	规格	储存条件
提取液	液体 55mL × 1 瓶	4℃
试剂一	液体 5mL × 1 瓶	4℃
试剂二	液体 12mL × 1 瓶	4℃
试剂三	粉剂 × 1 支: 临用前加入 1.5mL 蒸馏水充分溶解。	-20℃, 避光
试剂四	粉剂 × 1 瓶: 临用前加 15mL 蒸馏水充分溶解。	4℃, 避光
试剂五	粉剂 × 1 支	4℃, 避光
标准品	液体 1mL × 1 支	4℃

显色液配置: 临用前根据用量按照提取液 (V) : 试剂三 (V) : 试剂四 (V) : 试剂五 (m) = 1 (mL) : 0.3 (mL) : 3 (mL) : 15 (mg) 的比例充分混匀。(注意: 现配现用, 用多少配多少, 在棕色瓶中配制, 试剂盒中带有 5 个棕色空瓶)。

一、产品说明

乳酸是生物体代谢过程中重要的中间产物, 与糖代谢、脂类代谢、蛋白质代谢及细胞内能量代谢密切相关, 乳酸含量是评估糖元代谢的和有氧代谢的重要指标。

乳酸在乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸, 同时使 NAD⁺ 还原生成 NADH 和 H⁺, H⁺ 传递给 PMS 生成的 PMSH₂ 还原 INT 生成红色物质, 在 530nm 处有特征吸收峰。

二、自备材料

天平、研钵、离心机、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、恒温水浴锅。

三、样品准备

1、组织: 按照质量 (g) : 提取液体积 (mL) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g, 加入 1mL 提取液) 加入提取液, 冰浴匀浆后于 4℃, 12000g 离心 10min, 取上清测定。

2、细胞: 按照细胞数量 (10⁴ 个) : 提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1mL 提取液), 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 3min); 4℃, 12000g 离心 10min, 取上清测定。

3、血清: 直接测定。

四、操作步骤

正式测定前, 必需取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

1、分光光度计预热 30min 以上, 调节波长至 530nm, 蒸馏水调零:

2、操作表:

试剂名称 (μL)	样品对照管	样品测定管	标准对照管	标准测定管
样品	50	50		
标准品			50	50
水	225	450	225	450
试剂一	225		225	
试剂二	200	200	200	200
显色液	300	300	300	300

充分混匀, 于 37°C 反应 30min, 于 1mL 玻璃比色皿, 蒸馏水调零, 测定 530nm 处吸光值, 分别记为 A1, A2, A3, A4, ΔA 样=A2-A1; ΔA 标= A4-A3。 **标准对照管和标准测定管只需测定一次, 每个样品测定管设一个样品对照管。**

五、含量的计算

1、按照样本蛋白浓度计算:

$$LA \text{ 含量 } (\mu\text{mol}/\text{mg prot}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标} \div C_{pr} = 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \div C_{pr}$$

2、按照样本鲜重计算:

$$LA \text{ 含量 } (\mu\text{mol}/\text{g 鲜重}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标} \div W = 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \div W$$

3、按照细胞数量计算:

$$LA \text{ 含量 } (\mu\text{mol}/10^4 \text{ ceLL}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标} \div \text{细胞数量} = 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \div \text{细胞数量}$$

4、按照液体体积计算:

$$LA \text{ 含量 } (\mu\text{mol}/\text{mL}) = \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标} \times C \text{ 标} = 2 \times \Delta A \text{ 样} \div \Delta A \text{ 标}$$

C 标: 标准品浓度, 2mmol/L ; W: 样本质量, g/mL; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL。

六、注意事项

- 1、若吸光值超过 2, 请进行适当的稀释后再进行测定, 并在计算公式中乘以稀释倍数。
- 2、最低检出限为 1.8μmol/L。
- 3、标准对照管和标准测定管只需测定一次, 每个样品测定管设一个样品对照管。